

营养缺失对具鞘微鞘藻胞外多糖和糖原分配模式的影响

葛红梅 周雅茹 柳诗莺 王贤哲 韩兴烨 汪淑廉 胡春香

EFFECTS OF NUTRIENT DEFICIENCY ON THE PARTITION PATTERN OF EPS AND GLYCOGEN IN *MICROCOLEUS VAGINATUS*

GE Hong-Mei, ZHOU Ya-Ru, LIU Shi-Ying, WANG Xian-Zhe, HAN Xing-Ye, WANG Shu-Lian, HU Chun-Xiang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2021.2020.297>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

蓝藻胞外多聚物生物合成、群体形成与微囊藻水华

BIOSYNTHESIS PATHWAY OF EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES AND COLONIAL FORMATION OF CYANOBACTERIA UNDERLYING WATER BLOOMS OF *MICROCYSTIS*

水生生物学报. 2020, 44(5): 1008–1013 <https://doi.org/10.7541/2020.116>

棕鞭藻及其培养滤液对铜绿微囊藻生长及生理特性的影响

EFFECTS OF *OCHROMONAS* SP. CULTURE MEDIA FILTRATE ON THE GROWTH AND PHYSIOLOGICAL TRAITS OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA*

水生生物学报. 2019, 43(1): 213–218 <https://doi.org/10.7541/2019.026>

肌间刺缺失对斑马鱼骨骼发育的影响

COMPARATIVE ANALYSIS OF SKELETAL DEVELOPMENT BETWEEN WILDTYPE ZEBRAFISH AND INTERMUSCULAR BONE-DEFICIENT MUTANTS

水生生物学报. 2020, 44(3): 546–553 <https://doi.org/10.7541/2020.067>

运输密度和时间对黑尾近红皮质醇、乳酸、糖元含量的影响

EFFECTS OF TRANSPORTATION DENSITY AND TIME ON CORTISOL, LACTATE AND GLYCOGEN OF *ANCHERYTHROCULTER NIGROCAUDA*

水生生物学报. 2020, 44(2): 415–422 <https://doi.org/10.7541/2020.050>

湛江沿海海洋微藻及其多糖、脂类和蛋白藻株多样性研究

STUDIES ON THE DIVERSITY OF MARINE MICROALGAE AND THE STRAINS WITH HIGH POLYSACCHARIDES, LIPIDS AND PROTEINS ALONG ZHANJIANG COASTAL AREAS

水生生物学报. 2017, 41(5): 1080–1090 <https://doi.org/10.7541/2017.135>

铜绿微囊藻对轮虫生命表参数和表型特征的影响

EFFECTS OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* ON THE LIFE-TABLE PARAMETERS AND PHENOTYPIC TRAITS OF ROTIFERS

水生生物学报. 2017, 41(6): 1362–1368 <https://doi.org/10.7541/2017.168>

doi: 10.7541/2021.2020.297

## 营养缺失对具鞘微鞘藻胞外多糖和糖原分配模式的影响

葛红梅<sup>1</sup> 周雅茹<sup>1</sup> 柳诗莺<sup>1</sup> 王贤哲<sup>1</sup> 韩兴焯<sup>1</sup> 汪淑廉<sup>1</sup> 胡春香<sup>2</sup>

(1. 湖北工业大学河湖生态修复与藻类利用湖北省重点实验室, 武汉 430068; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

**摘要:** 为探究蓝藻胞外多糖(EPS)和胞内糖原的分配模式和作用, 研究了在氮、磷、镁、钙和铁缺失条件下具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus* Gomont FACHB-896)胞外多糖和糖原代谢合成过程中碳流分配规律。结果表明培养基中 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ 的缺乏明显抑制了具鞘微鞘藻的生长和叶绿素 $a$ 的合成( $P < 0.05$ ), 而 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Fe}^{2+}$ 的缺乏则对这2个指标无明显影响( $P > 0.05$ )。  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Fe}^{2+}$ 的缺乏并未刺激释放多糖(RPS)和总EPS的分泌( $P > 0.05$ ), 而 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Fe}^{2+}$ 的缺乏明显促进荚膜多糖(CPS)的合成( $P < 0.05$ )。  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Fe}^{2+}$ 的缺乏明显促进糖原的合成( $P < 0.01$ ), 且EPS/糖原比值在1.7—8.0, 明显小于对照组( $P < 0.01$ ); 尤其在氮缺乏时, EPS/糖原比值最小( $P < 0.01$ ), 细胞内总糖含量最高( $P < 0.01$ ), 细胞分配能量更经济。以上结果表明, 在营养缺失时, 具鞘微鞘藻倾向存储糖原, 但仍将1.7—8.0倍糖原的碳流用于合成EPS。在胞外合成EPS的过程中, 将有限的能量优先合成利于自身生存的CPS, 较少向外分泌RPS。营养缺失明显影响具鞘微鞘藻胞外多糖和糖原的分配模式, 这种能量分配模式可能十分有利于其抵抗贫瘠沙漠的生长环境。

**关键词:** 胞外多糖(EPS); 糖原; 具鞘微鞘藻; 营养缺失

中图分类号: Q945.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2022)02-0203-07



34亿年前, 蓝藻是地球上唯一的光合自养生物, 当今, 它仍然是很多生境中非常重要的光合植物类群, 特别是作为严酷贫瘠生境中最早的初级生产者, 对地球生态系统的形成和演化起着重要的作用。而它成功拓殖的根源很大部分来自细胞外的胞外多糖(Exopolysaccharides, EPS), 因这部分的存在大大提高了蓝藻抵抗干旱、辐射、风沙和盐碱等多种胁迫的能力<sup>[1, 2]</sup>。

蓝藻光合作用的初级产物大多数是糖原<sup>[3]</sup>。虽然糖原不仅调节胞内碳浓度、抵御饥饿<sup>[4]</sup>, 还具有抵抗盐胁迫和氧化损伤的功能<sup>[5]</sup>, 但为了抵御和适应多种胁迫环境, 蓝藻还分配相当的能量到胞外, 特别地形成由紧密结合的荚膜多糖(Capsular polysaccharides, CPS)和松散结合能分泌到周围环境中的释放多糖(Released polysaccharides, RPS)构成的EPS。而且由于糖原<sup>[6]</sup>和EPS<sup>[7, 8]</sup>诱人的工业应用前

景, 大量研究都只关注其中一方的积累, 仅少量研究探讨了蓝藻糖原和EPS在同一培养条件下的变化规律, 如Ge等<sup>[9]</sup>研究发现光照强度明显影响具鞘微鞘藻细胞内糖原与胞外EPS的分配格局; Myriam等<sup>[10]</sup>通过文献调研和统计分析, 推断出光强、温度、高盐和氮限制是能影响钝顶节旋藻(*Arthrospira platensis*)EPS和糖原合成和分泌的环境因子, 其中光强的影响作用最明显, 而并未在实验条件下研究钝顶节旋藻在同一培养条件下藻细胞中碳流在糖原/EPS代谢生物合成途径中的分配。大量研究发现, 氮限制<sup>[6]</sup>、光<sup>[6, 7, 9]</sup>、盐<sup>[3]</sup>和重金属<sup>[8]</sup>胁迫等逆境环境明显刺激蓝藻EPS的分泌或糖原的合成, 在沙漠环境中, 营养元素的匮乏是极其常见的。基于此, 本文以分布在生物土壤结皮中的蓝藻优势种具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus* Gomont)为实验材料, 研究其在不同营养元素缺失条件下细胞胞外EPS和

收稿日期: 2021-01-08; 修订日期: 2021-06-24

基金项目: 国家自然科学基金(31800457和51808416); 中国科学院战略性先导科技专项(XDA17010502); 湖北省大学生创新创业训练计划项目(S201910500036) 资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31800457 and 51808416); Strategic Leading Science and Technology Project of Chinese Academy of Sciences (XDA17010502); Project Funding of Hubei College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (S201910500036)]

作者简介: 葛红梅(1983—), 女, 博士; 研究方向为藻类生理生化学。E-mail: gehongmei@hbut.edu.cn

通信作者: 胡春香, 女, 研究员, 博士生导师; 研究方向为特殊环境藻类生物学。E-mail: cxhu@ihb.ac.cn

胞内糖原合成的规律,以探究具鞘微鞘藻胞外多糖和糖原代谢合成过程中碳流分配规律,从而深入了解结皮蓝藻抵抗逆境的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种及其培养

具鞘微鞘藻(FACHB-896)购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库,最初分离自腾格里沙漠沙坡头试验站的生物结皮中。*M. vaginatus*在10 L BG-11<sup>[11]</sup>培养基中通气培养,收集藻体,并用蒸馏水清洗3遍后转接到含50 mL培养基的100 mL的锥形瓶中。培养基为分别缺失NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>和Fe<sup>2+</sup>离子的BG-11及BG-11; BG-11培养基为对照,缺失NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>和Fe<sup>2+</sup>离子的培养基分别为BG-11中未加入NaNO<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub>、CaCl<sub>2</sub>和柠檬酸铁铵等化合物。藻种和实验藻体都在25℃(±1℃), 40 μE/(m<sup>2</sup>·s)单侧白光连续光照培养。每个处理设3个平行,每瓶每天手动摇4次。

### 1.2 生物量测定

在培养第4和第8天取样,每次取样20 mL,藻体用蒸馏水清洗1遍后,8000×g离心4min,真空冷冻干燥(Christ ALPHA 1-2 LD plus, German)后称重。

### 1.3 光系统II(PS II)的最大光合效率(F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>)的测定

取2 mL藻液,暗适应15min后,然后用便携式植物效率分析仪(PEA, Hansatech, UK)测定其光合活性。最大荧光时的饱和脉冲为1500 μE/(m<sup>2</sup>·s)。

### 1.4 叶绿素a含量的测定

叶绿素a含量的测定参照Lan等<sup>[12]</sup>的方法,称取一定的干样,然后置于研钵中,在避光条件下,80%的丙酮溶液中研磨藻细胞,4℃冰箱中避光放置一夜,离心后测定上清液在663、490和384 nm波长下的吸光值。按公式叶绿素a含量=1000×(1.02×A<sub>663</sub>-0.027×A<sub>384</sub>+0.01×A<sub>490</sub>)/92.5计算,单位mg/g。

### 1.5 糖的测定

收集藻细胞后的培养基用于测定释放的多糖(Released polysaccharides, RPS)的含量<sup>[13]</sup>;细胞荚膜多糖(Capsular polysaccharides, CPS)含量的测定参照葛红梅等<sup>[14]</sup>的方法,将称重干藻加蒸馏水于80℃水浴6h,离心(3000×g, 15min)后,上清液用分子截留量3500 D的透析袋透析2d,然后测定糖含量。总的胞外多糖(Extracellular polysaccharides, EPS)是RPS和CPS含量的总和。细胞内总糖的测定参照葛红梅等<sup>[14]</sup>的方法进行。RPS、CPS和细胞内总糖的定量测定均用苯酚硫酸法进行<sup>[15]</sup>。

糖原的测定参照Ge等<sup>[9]</sup>的方法,将干藻样用

80%乙醇清洗,加入蒸馏水于120℃高压1h,用α淀粉葡萄糖苷酶于57℃过夜,然后按照测定葡萄糖的方法进行<sup>[16]</sup>。

## 1.6 数据分析

实验数值是3个平行的平均值,数据利用One-way ANOVA进行方差分析,在SPSS 18.0软件上进行。*P*<0.05为有显著性差异,*P*<0.01为有极显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 营养缺失对生长的影响

如图1所示,无论是在第4还是第8天,*M. vaginatus*在分别缺NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和Mg<sup>2+</sup>培养基的生物量明显低于对照(全营养培养基;*P*<0.05),而在分别缺少Ca<sup>2+</sup>和Fe<sup>2+</sup>培养基中的生物量与对照的几乎相同(*P*>0.05;图1);在缺PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>培养基中的生物量在第8天时明显低于对照(*P*<0.05)。

### 2.2 营养缺失对F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>和叶绿素a含量的影响

如图2所示,在培养的第4和第8天,在缺NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的培养基中,*M. vaginatus* PS II的最大光合效率(F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>)明显高于对照(*P*<0.01),缺PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>培养物的F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>值明显低于对照(*P*<0.01;图2),而缺Mg<sup>2+</sup>培养物的F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>值与对照无明显差异(*P*>0.05;图2)。缺Ca<sup>2+</sup>或缺Fe<sup>2+</sup>培养物在第4天时的F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>值均明显高于对照(*P*<0.05;图2),而在第8天时,与对照的无明显区别(*P*>0.05)。

如图3所示,无论是在培养的第4还是第8天,缺

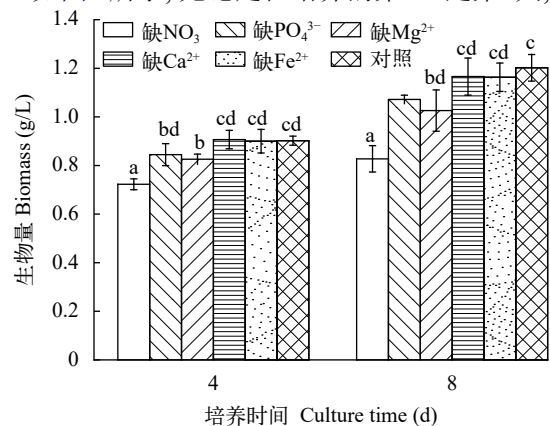


图1 营养缺失对具鞘微鞘藻生物量的影响

Fig. 1 Effects of nutrient deficiency on biomass of *M. vaginatus*. Letters with the same above histogram bars indicate no significantly difference at the same time (*P*>0.05); Letters with the different letters indicate significantly difference at the same time (*P*<0.05);下同

Values with the same letters above histogram bars indicate no significantly difference at the same time (*P*>0.05); Values with the different letters indicate significantly difference at the same time; the same applies below



$\text{NO}_3^-$ 或缺 $\text{Mg}^{2+}$ 的*M. vaginatus*培养物,其叶绿素 $a$ 含量均明显低于其他处理( $P<0.01$ ),而缺 $\text{Ca}^{2+}$ 或缺 $\text{Fe}^{2+}$ 培养物的叶绿素 $a$ 含量与对照的无明显差异( $P>0.05$ ;图3)。缺 $\text{PO}_4^{3-}$ 培养物在培养第4天时的叶绿素 $a$ 含量与对照无明显差异( $P>0.05$ ),而到第8天时,明显低于对照( $P<0.01$ ;图3)。

### 2.3 营养缺失对EPS各部分及其总量的影响

图4a显示了在营养缺失条件下*M. vaginatus*释放到培养基中RPS的情况。与对照相比,实验设定的营养缺失条件并未刺激*M. vaginatus*释放RPS,相反,第8天时,在分别缺 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 或 $\text{Ca}^{2+}$ 培养基中的RPS量均明显低于对照( $P<0.05$ ),缺 $\text{Fe}^{2+}$ 培养基中RPS量与对照几乎相同( $P>0.05$ )。

如图4b所示,无论是在培养的第4还是第8天,缺 $\text{NO}_3^-$ 培养物的CPS含量明显低于对照( $P<0.01$ ),而缺 $\text{PO}_4^{3-}$ 或缺 $\text{Mg}^{2+}$ 培养物的CPS含量均与对照无

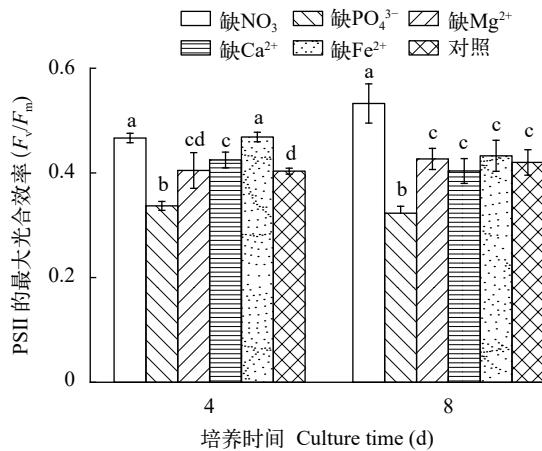


图2 营养缺失对具鞘微鞘藻 $F_v/F_m$ 的影响

Fig. 2 Effects of nutrient deficiency on  $F_v/F_m$  of *M. vaginatus*

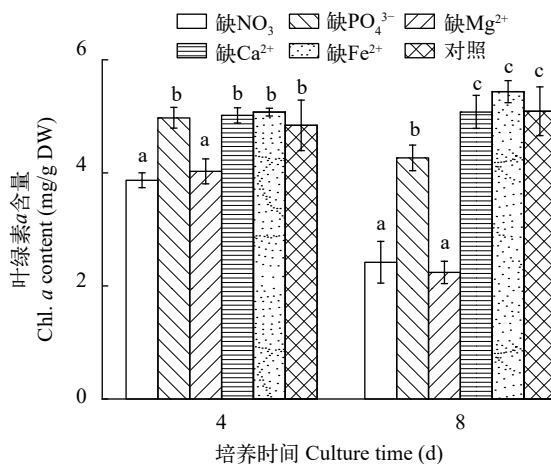


图3 营养缺失对具鞘微鞘藻叶绿素 $a$ 的影响

Fig. 3 Effects of nutrient deficiency on chlorophyll a of *M. vaginatus*

明显差异( $P>0.05$ ),缺 $\text{Ca}^{2+}$ 或缺 $\text{Fe}^{2+}$ 培养物的CPS含量均明显高于对照( $P<0.05$ ;图4b)。各处理的RPS/CPS比值都小于1,尤其在第8天时,分别缺 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 或 $\text{Ca}^{2+}$ 培养物的RPS/CPS比值都明显低于对照( $P<0.01$ ;图4c),即表明在营养缺失条件下,*M. vaginatus*在胞外合成EPS过程中,优先合成CPS,较少合成RPS。

营养缺失对*M. vaginatus* EPS的影响如图4d所示。无论是在培养的第4还是第8天,缺 $\text{NO}_3^-$ 或缺 $\text{PO}_4^{3-}$ 培养物合成的EPS量均明显少于对照( $P<0.01$ ),而缺 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 或 $\text{Fe}^{2+}$ 培养物的EPS量均与对照无明显差异( $P>0.05$ ;图4d)。

### 2.4 营养缺失对细胞内总糖的影响

图5显示了在营养缺失条件下*M. vaginatus*细胞内总糖的情况。在培养第4天时,各处理间的细胞内总糖无明显区别( $P>0.05$ );到第8天时,缺 $\text{NO}_3^-$ 培养物胞内总糖含量明显高于其他各处理组( $P<0.01$ ),而缺 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 或 $\text{Fe}^{2+}$ 培养物的胞内总糖含量均与对照无明显差异( $P>0.05$ ;图5)。

### 2.5 营养缺失对糖原的影响

图6显示了在营养缺失条件下*M. vaginatus*合成糖原的情况。与对照相比,无论是在培养的第4还是第8天,缺 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 或 $\text{Ca}^{2+}$ 等营养盐均明显促进了*M. vaginatus*体内糖原的合成( $P<0.01$ ),而缺 $\text{Fe}^{2+}$ 直到第8天时才明显促进了糖原的合成( $P<0.01$ )。

### 2.6 营养缺失对EPS/糖原比值的影响

如图7所示,无论在培养的第4还是第8天,缺 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 或 $\text{Ca}^{2+}$ 的培养物其EPS/糖原比值在1.7—8.0,且明显低于对照组( $P<0.01$ ),而随着培养时间的延长,各培养条件下EPS/糖原比值基本无变化( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 营养缺失对生长的影响

氮、磷、镁、钙等大量元素及铁等微量元素是非固氮藻类生长必需的营养元素,当某种元素长期缺乏时,生物体的生长和生理功能则受到一定抑制<sup>[17,18]</sup>。在本研究中,缺 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 或 $\text{Mg}^{2+}$ 明显影响了藻体的生长和叶绿素 $a$ 的合成,而 $\text{Ca}^{2+}$ 或 $\text{Fe}^{2+}$ 的缺乏则对这两项指标无明显影响。氮和镁是叶绿素的主要组成元素,因而可能对该藻的生长和叶绿素 $a$ 合成影响更为明显,而藻细胞内钙和铁元素在短时期内能满足自身生长和叶绿素 $a$ 合成的需求。

### 3.2 营养缺失对EPS分泌的影响

有研究发现,影响蓝藻EPS分泌的主要营养元

素包括可利用的碳、氮、磷和硫<sup>[19, 20]</sup>, 其中碳和氮主要通过调节胞内的碳氮比例而影响EPS的分泌, 即当碳氮比大于一定阈值时, 藻细胞向外分泌EPS<sup>[19, 21]</sup>。一般氮限制因抑制藻类的生长, 造成体内碳的过剩, 而明显促进蓝藻EPS的分泌<sup>[19, 21]</sup>。在多数情况下, 缺磷、低磷或缺硫条件可以刺激蓝藻胞外多糖的释放<sup>[22, 22]</sup>。一般而言, 磷浓度的增加基本不影响胞外多糖的产量。盐浓度(NaCl)的增加促进EPS的分泌与藻细胞通过分泌EPS抵抗环境逆境有关<sup>[13, 23]</sup>。我们的研究结果发现, 氮缺乏明显抑制*M. vaginatus*分泌RPS、CPS和EPS, 且限制了其生长, 这与以前的大多数研究结果相反, 但与Tiscner和Davis等<sup>[24]</sup>的研究结果相同。这可能是因为氮是*M. vaginatus*生长和体内物质合成的重要元素, 缺乏氮素时, 细胞内蛋白合成受到限制, 但胞内碳含量并未过剩, 将有限的能量用于生长和体内代谢等, 但不向外分泌RPS, 则就明显抑制了EPS的分泌。磷缺乏也抑制*M. vaginatus* RPS和EPS的分泌, 与以前在鱼腥藻*Anabaena* spp.、胶鞘藻*Phormidium* sp.和曲壳藻*Achnanthes brevipes*中研究结果

相似<sup>[25, 27]</sup>。镁、钙或铁缺乏既不影响*M. vaginatus* EPS的分泌, 也不影响其生长, 这与在2种蓝杆藻*Cyanothece* 16Som2和*C. closterium*中发现的结果相似<sup>[22, 27]</sup>。这些结果说明EPS的分泌受培养基中不同营养元素的影响。氮、磷、镁、钙或铁的缺乏并未刺激*M. vaginatus*总EPS的分泌, 很可能是由于细胞倾向将能量优先存储在体内, 帮助其抵抗营养缺失时的不良环境, 使碳流较少向外输出。

### 3.3 营养缺失对RPS和CPS分配模式的影响

蓝藻的EPS是由紧密结合的CPS和松散结合的RPS组成, 它们对细胞的功能和重要性上也是有偏重<sup>[28]</sup>, 合成胶鞘有利于保护藻细胞<sup>[29]</sup>, 而分泌RPS是为改善细胞外界的环境, 如增加周围环境中有机碳含量和酶活性<sup>[1]</sup>。以前研究发现, 水华蓝藻*Microcystis aeruginosa*<sup>[30, 31]</sup>在生长过程中分泌的EPS中以CPS为主, Nicolaus等<sup>[26]</sup>研究发现一些蓝藻以CPS为主, 而一些蓝藻以RPS为主。在我们的研究中, 与对照相比, *M. vaginatus* 在营养元素缺失条件下, 在向胞外分泌的EPS中, 分泌更多的CPS, 而较少分泌RPS。这说明在营养元素受到限制时, *M.*

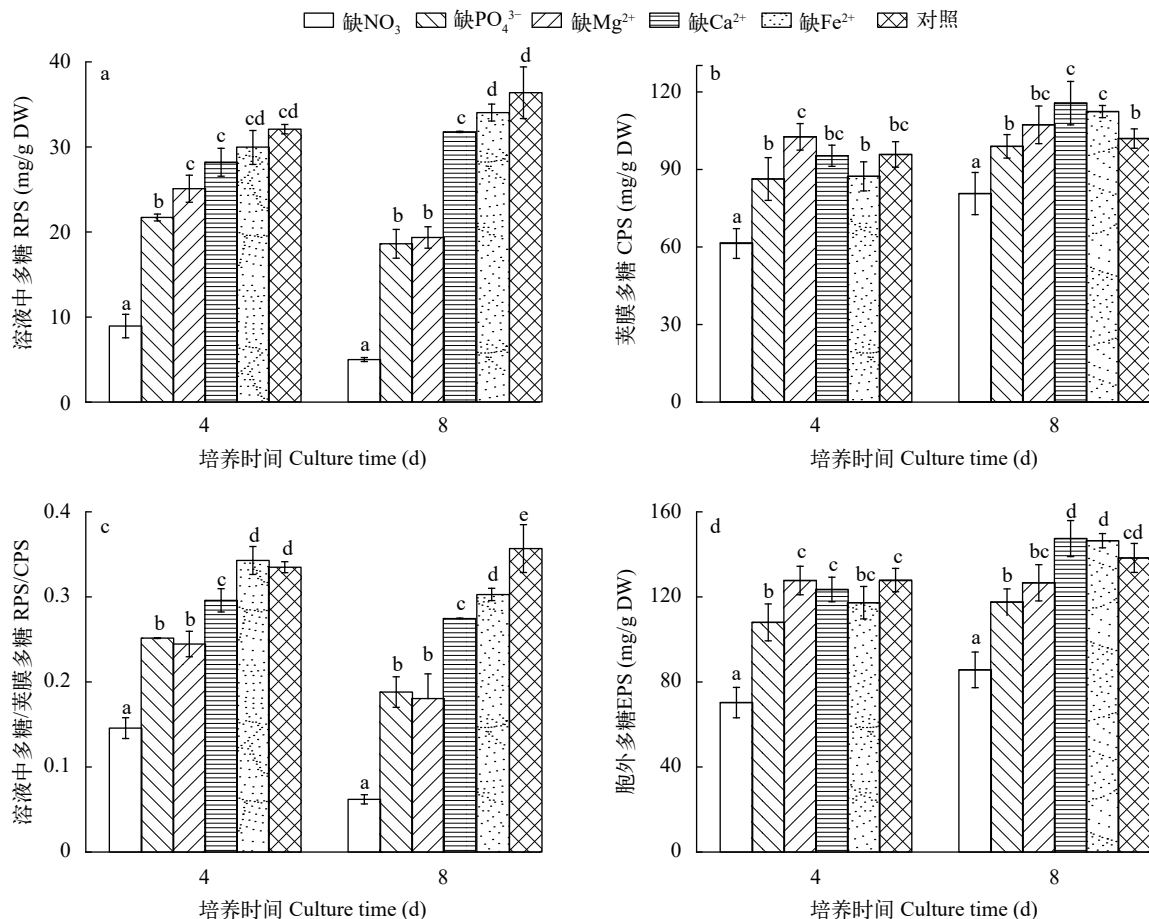


图4 营养缺失对具鞘微鞘藻RPS、CPS、RPS/CPS、EPS的影响

Fig. 4 Effects of nutrient deficiency on RPS, CPS, RPS/CPS and EPS of *M. vaginatus*

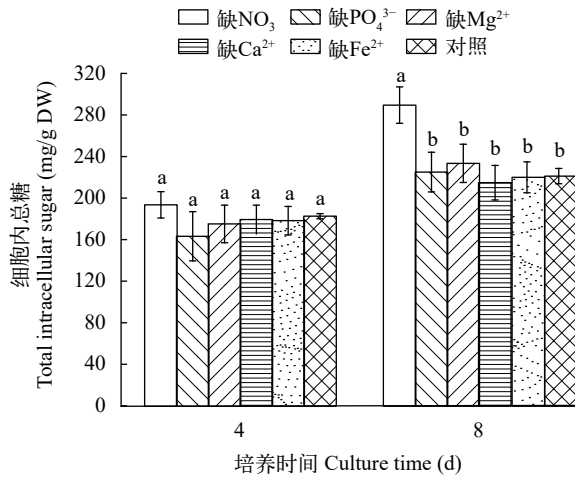


图5 营养缺失对具鞘微鞘藻细胞内总糖的影响

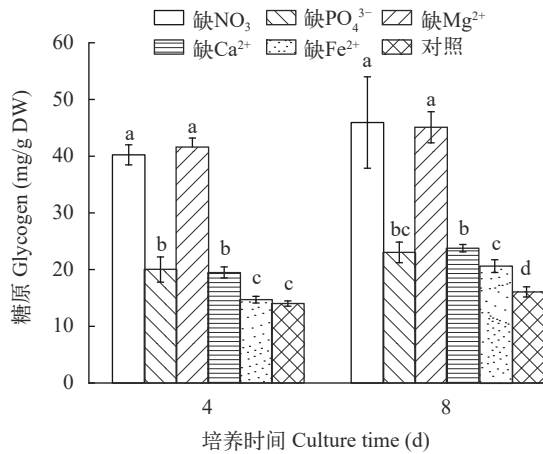
Fig. 5 Effects of nutrient depletion on total intracellular carbohydrate of *M. vaginatus*

图6 营养缺失对具鞘微鞘藻糖原的影响

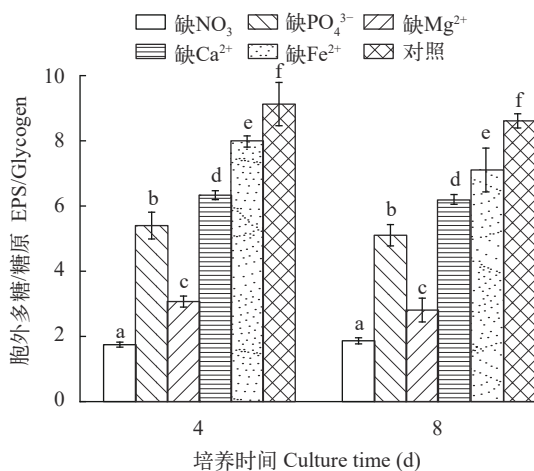
Fig. 6 Effects of nutrient depletion on glycogen of *M. vaginatus*

图7 营养缺失对具鞘微鞘藻EPS/糖原比值的影响

Fig. 7 Effects of nutrient depletion on the ratio of EPS/glycogen in *M. vaginatus*

*vaginatus*将有限的能量优先合成利于自身生存的CPS。这种经济合理的能量分配模式将十分有利于其在贫瘠沙漠地区生存。

### 3.4 营养缺失对糖原合成的影响

目前,外界环境因素对糖原合成的影响已有很多报道,主要集中在营养条件和培养条件方面。在蓝藻中,当营养缺失抑制细胞生长时或突然增加能量输入时,糖原会大量积累<sup>[4, 5, 32]</sup>。氮限制会明显促进蓝藻糖原的积累<sup>[4, 5, 33]</sup>。磷、硫磷限制同样会促进极大节旋藻*Arthrospira maxima*体内糖原的积累<sup>[33]</sup>。有研究发现高盐浓度同样会明显促进极大节旋藻*Synechococcus elongatus* PCC 7942和集胞藻*Synechocystis* sp. PCC 6803糖原的积累<sup>[4, 5]</sup>。在我们的研究中,氮和磷缺乏也明显促进了蓝藻体内糖原的积累,而且发现镁、钙或铁缺乏也明显促进糖原的合成,尤其是氮或镁缺乏对糖原合成促进作用最明显。可能是因为氮和镁限制明显抑制了*M. vaginatus*的生长和叶绿素a的合成,而光合活性并未受到抑制,将过剩的碳用于体内糖原的积累,因而氮和镁缺乏时的促进糖原合成作用最明显。而磷的缺乏限制了*M. vaginatus*的生长,但对叶绿素a的合成没影响,钙和铁的缺乏对*M. vaginatus*的生长和叶绿素a的合成无明显影响,因而磷、钙和铁的缺乏对糖原的积累作用要弱些。这些结果说明在短暂营养缺失条件下,细胞会存储能量物质,但不同的营养离子限制对其累积作用是有差异的。这些结果进一步表明糖原含量的增高可能与其抵抗逆境环境有关。

### 3.5 营养缺失对EPS和糖原分配模式的影响

在营养缺失时,具鞘微鞘藻倾向存储糖原,但仍将高于合成糖原的碳流用于合成EPS。尤其在氮缺乏时,EPS/糖原值最小,细胞内总糖含量最高,细胞分配能量更经济。营养缺失明显影响具鞘微鞘藻EPS和糖原的分配格局,这种能量分配模式可能十分有利于其在贫瘠沙漠地区生存。

## 4 结论

(1) NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>或Mg<sup>2+</sup>缺乏明显抑制了*M. vaginatus*的生长和叶绿素a的合成( $P < 0.05$ ),而Ca<sup>2+</sup>或Fe<sup>2+</sup>缺乏则这两个指标无明显影响( $P > 0.05$ )。(2)氮、磷、镁、钙或铁的缺乏均未刺激*M. vaginatus*总EPS的分泌( $P > 0.05$ ),而明显促进了糖原的合成( $P < 0.01$ )。营养缺失明显影响了该藻在合成EPS和糖原方面的能力和物质分配,细胞倾向将固碳产物以糖原形式存储在体内,帮助其抵抗营养缺失时的不良环境。(3)营养缺失时,*M. vaginatus*在



合成EPS的过程中,将有限的能量优先分配用于合成利于自身生存的CPS,较少向外分泌RPS,这种经济合理的能量分配模式将十分有利于其在贫瘠沙漠地区生存。(4)营养缺失明显影响具鞘微鞘藻EPS和糖原的分配模式,这种能量分配模式可能十分有利于其抵抗贫瘠沙漠环境。

#### 参考文献:

- [1] Mager D M, Thomas A D. Extracellular polysaccharides from cyanobacterial soil crusts: A review of their role in dryland soil processes [J]. *Journal of Arid Environments*, 2011, **75**(2): 91-97.
- [2] Cruz D, Vasconcelos V, Pierre G, et al. Exopolysaccharides from cyanobacteria: strategies for bioprocess development [J]. *Applied Sciences*, 2020, **10**(11): 3763.
- [3] Suzuki E, Onoda M, Colleoni C, et al. Physicochemical variation of cyanobacterial starch, the insoluble  $\alpha$ -glucans in cyanobacteria [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2013, **54**(4): 465-473.
- [4] Gründel M, Scheunemann R, Lockau W, et al. Impaired glycogen synthesis causes metabolic overflow reactions and affects stress responses in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 [J]. *Microbiology*, 2012, **158**(12): 3032-3043.
- [5] Suzuki E, Ohkawa H, Moriya K, et al. Carbohydrate metabolism in mutants of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 defective in glycogen synthesis [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76**(10): 3153-3159.
- [6] Aikawa S, Izumi Y, Matsuda F, et al. Synergistic enhancement of glycogen production in *Arthrospira platensis* by optimization of light intensity and nitrate supply [J]. *Bioresource Technology*, 2012(108): 211-215.
- [7] Mota R, Guimarães R, Büttel Z, et al. Production and characterization of extracellular carbohydrate polymer from *Cyanothece* sp. CCY 0110 [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, **92**(2): 1408-1415.
- [8] Bhunia B, Prasad Uday U S, Oinam G, et al. Characterization, genetic regulation and production of cyanobacterial exopolysaccharides and its applicability for heavy metal removal [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019(179): 228-243.
- [9] Ge H M, Wu H Y, Wan D J, et al. The partition pattern of glycogen and extracellular polysaccharides in two filamentous cyanobacteria from desert soil crusts [J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2019, **28**(3): 1683-1692.
- [10] Myriam P, Olivier G, Gerald T, et al. Characterization of the polysaccharides chemical diversity of the cyanobacteria *Arthrospira platensis* [J]. *Algal Research*, 2019(38): 1-13.
- [11] Rippka R, Deruelles J, Waterbury J B, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria [J]. *Journal of General Microbiology*, 1979, **111**(1): 1-61.
- [12] Lan S B, Wu L, Zhang D L, et al. Effects of drought and salt stresses on man-made cyanobacterial crusts [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2010, **46**(6): 381-386.
- [13] Chen L Z, Li D H, Liu Y D. Salt tolerance of *Microcoleus vaginatus* Gom., a cyanobacterium isolated from desert algal crust, was enhanced by exogenous carbohydrates [J]. *Journal of Arid Environments*, 2003, **55**(4): 645-656.
- [14] Ge H M, Zhou X P, Xia L, et al. Effects of light and nitrogen source on the secretion of extracellular polysaccharides from *Nostoc* sp. [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(3): 480-486. [葛红梅, 周旭萍, 夏令, 等. 光强和氮源对念珠藻胞外多糖分泌的影响 [J]. 水生生物学报, 2014, **38**(3): 480-486.]
- [15] Li H S. Experiment Principle and Techniques of Plant Physiological Biochemican Expeviment [M]. Beijing: High Education Press, 2000: 194-197. [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, 2000: 194-197.]
- [16] Frederick K R, Tung J, Emerick R S, et al. Glucose oxidase from *Aspergillus niger*. Cloning, gene sequence, secretion from *Saccharomyces cerevisiae* and kinetic analysis of a yeast-derived enzyme [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, **265**(7): 3793-3802.
- [17] Arad S, Lerental Y, Dubinsky O. Effect of nitrate and sulfate starvation on polysaccharide formation in *Rhodella reticulata* [J]. *Bioresource Technology*, 1992, **42**(2): 141-148.
- [18] Fattom A, Shilo M. *Phormidium* J-1 bioflocculant: production and activity [J]. *Archives of Microbiology*, 1984, **139**(4): 421-426.
- [19] Delattre C, Pierre G, Laroche L, et al. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides [J]. *Biotechnology Advances*, 2016, **34**(7): 1159-1179.
- [20] Pereira S B, Zille A, Micheletti E, et al. Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, **33**(5): 917-941.
- [21] Otero A, Vincenzini M. *Nostoc* (Cyanophyceae) Goes nude: Extracellular polysaccharides serve as a sink for reducing power under unbalanced C/N metabolism [J]. *Journal of Phycology*, 2004, **40**(1): 74-81.
- [22] De Philippis R, Margheri M C, Pelosi E, et al. Exopolysaccharide production by a unicellular cyanobacterium isolated from a hypersaline habitat [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1993, **5**(4): 387-394.
- [23] Ozturk S, Aslim B. Modification of exopolysaccharide

- composition and production by three cyanobacterial isolates under salt stress [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2010, **17**(3): 595-602.
- [24] Tischer R G, Davis E B. The effect of various nitrogen sources upon the production of extracellular polysaccharide by the blue-green alga *Anabaena flos-aquae* A-37 [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1971, **22**(3): 546-551.
- [25] Guerrini F, Cangini M, Boni L, *et al.* Metabolic responses of the diatom *Achnanthes brevipes* (Bacillariophyceae) to nutrient limitation [J]. *Journal of Phycology*, 2000, **36**(5): 882-890.
- [26] Nicolaus B, Panico A, Lama L, *et al.* Chemical composition and production of exopolysaccharides from representative members of heterocystous and non-heterocystous cyanobacteria [J]. *Phytochemistry*, 1999, **52**(4): 639-647.
- [27] De Philippis R, Sili C, Tassinato G, *et al.* Effects of growth conditions on exopolysaccharide production by *Cyanospira capsulata* [J]. *Bioresource Technology*, 1991, **38**(2-3): 101-104.
- [28] Ge H M, Zhang J, Zhou X P, *et al.* Effects of light intensity on components and topographical structures of extracellular polymeric substances from *Microcoleus vaginatus* (Cyanophyceae) [J]. *Phycologia*, 2014, **53**(2): 167-173.
- [29] Rossi F, Potrafka R M, Pichel F G, *et al.* The role of the exopolysaccharides in enhancing hydraulic conductivity of biological soil crusts [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012(46): 33-40.
- [30] Xu H C, Cai H Y, Yu G H, *et al.* Insights into extracellular polymeric substances of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* using fractionation procedure and parallel factor analysis [J]. *Water Research*, 2013, **47**(6): 2005-2014.
- [31] Xu H C, Yu G H, Jiang H L. Investigation on extracellular polymeric substances from mucilaginous cyanobacterial blooms in eutrophic freshwater lakes [J]. *Chemosphere*, 2013, **93**(1): 75-81.
- [32] De Philippis R, Sili C, Vincenzini M. Glycogen and poly- $\beta$ -hydroxybutyrate synthesis in *Spirulina maxima* [J]. *Journal of General Microbiology*, 1992, **138**(8): 1623-1628.
- [33] Xu Y, Guerra L T, Li Z K, *et al.* Altered carbohydrate metabolism in glycogen synthase mutants of *Synechococcus* sp. strain PCC 7002: Cell factories for soluble sugars [J]. *Metabolic Engineering*, 2013(16): 56-67.

## EFFECTS OF NUTRIENT DEFICIENCY ON THE PARTITION PATTERN OF EPS AND GLYCOGEN IN *MICROCOLEUS VAGINATUS*

GE Hong-Mei<sup>1</sup>, ZHOU Ya-Ru<sup>1</sup>, LIU Shi-Ying<sup>1</sup>, WANG Xian-Zhe<sup>1</sup>, HAN Xing-Ye<sup>1</sup>,  
WANG Shu-Lian<sup>1</sup> and HU Chun-Xiang<sup>2</sup>

(1. Hubei Key Laboratory of Ecological Restoration for River-lakes and Algal Utilization, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; 2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** To explore the distribution patterns and function of extracellular EPS and glycogen in cyanobacteria, we studied the carbon fluxes repartition throughout the EPS/glycogen metabolic biosynthesis pathways in *Microcoleus vaginatus* Gomont (FACHB-896) under nitrogen, phosphorus, magnesium, calcium and iron deficiency conditions. The results showed that the lack of  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  in the medium significantly inhibited the growth and the chlorophyll *a* synthesis of *M. vaginatus* ( $P < 0.05$ ), but the lack of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  medium had no significant effects on these two indexes ( $P > 0.05$ ). The deficit of  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  did not stimulate the secretion of RPS and total EPS ( $P > 0.05$ ), while the lack of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  significantly promoted the synthesis of CPS ( $P < 0.05$ ). The deficit of  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  all significantly promoted the synthesis of glycogen ( $P < 0.01$ ), and significantly reduced the EPS/glycogen ratio with a range of 1.7 and 8.0 ( $P < 0.01$ ). Nitrogen deficiency had the value of the lowest EPS/glycogen ( $P < 0.01$ ) and the highest intracellular total sugar ( $P < 0.01$ ), showing that the energy distribution in cells was more economical. The above results showed that *M. vaginatus* tend to store glycogen, but 1.7—8.0 times carbon flow of glycogen was still used to synthesize EPS. In the process of extracellular synthesis of EPS, the limited energy was preferentially synthesized to CPS which was beneficial to its own survival, and then to RPS secretion. Nutrient deficiency significantly affected the distribution pattern of EPS and glycogen of *M. vaginatus*, which may benefit its resistance to the barren desert environment.

**Key words:** EPS; Glycogen; *Microcoleus vaginatus*; Nutrient deficiency