doi:10.6043/j.issn.0438-0479. 201612031

**溶氧及植物激素对红发夫酵母生长及**

**虾青素合成的影响**

潘雪珊，戴凌玫，卢英华，凌雪萍[[1]](#footnote-2)\*

（厦门大学 化学化工学院，厦门市合成生物技术重点实验室，福建 厦门 361005）

**摘要：**溶氧及外源物质的添加对红发夫酵母（*Phaffia rhodozyma*）虾青素合成有明显的影响。以红发夫酵母为材料，研究了在含挡板的凹槽摇瓶(可增加溶氧)培养中添加不同植物激素对酵母生长及虾青素积累的影响。结果表明，凹槽摇瓶培养能明显提高细胞生物量和虾青素产量，研究确定了凹槽摇瓶培养最适添加植物激素为6-苄基嘌呤(6-BA)，最适添加时间为0 h，最适添加浓度为0.25 mg/L；在最适条件下，虾青素的最大产量和产率分别为58.02 mg/L和3.512 mg/g，较对照组分别提高了24.56%和10.65%。这说明在细胞生长过程中添加植物激素有利于虾青素的积累，这为红发夫酵母生产虾青素的高密度规模化生产奠定基础。

**关键词：**虾青素；红发夫酵母；溶氧；植物激素

**中图分类号**：Q 781 **文献标志码**：A

虾青素(astaxanthin)，化学名称3, 3’-二羟基-4, 4’-二酮基-β, β’-胡萝卜素，别名虾黄素，是酮式类胡萝卜素的一种，属于萜烯类不饱和化合物，虾青素广泛存在于自然界中，天然呈紫红色，因其具有极强的抗氧化活性，虾青素在增强机体的免疫能力、抗癌、抗高血压及保护心血管健康等方面被广泛应用[1-4]。目前虾青素的生产方法主要有化学合成法，化学提取法及生物技术法，因利用化学合成法进行虾青素生产需要经过反复的生物催化及多步骤的化学反应且在其安全性和应用上还存在一定的局限性[5]，而化学提取法生产工艺苛刻，成本较高、产品纯度低、原料来源有地域性限制等原因，天然虾青素逐渐受到人们的青睐。红发夫酵母(*Phaffia rhodozyma*，也称*Xanthophyllomyces dendrorhous*)是除雨声红球藻以外虾青素含量最高的微生物，它具有易于培养，发酵周期短，生长快速，无需光照，可利用多种碳源，且能够在发酵罐中实现高密度培养等诸多优势，因此是一种极具有商业开发价值的微生物[6, 7]。但由于微生物发酵产量低导致价格较高而限制其广泛应用。因此提高发酵液中虾青素的产量，对实现工业化生产具有重要意义。

为了提高虾青素的产量，研究者对红发夫酵母菌种进行了诱变选育及对菌体的培养基和培养条件进行了优化。[Liu](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X0700099X)等通过培养基优化、发酵工艺改良等方面的研究提高了虾青素产量。朱龙宝等的研究证明，在红发夫酵母中，低氮含量有利于虾青素的积累。[梁新乐](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/author?cmd=authoruri&wd=authoruri%3A%28723b98e81f4ced5%29%20author%3A%28%E6%A2%81%E6%96%B0%E4%B9%90%29%20%E6%B5%99%E6%B1%9F%E5%B7%A5%E5%95%86%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E7%94%9F%E7%89%A9%E5%B7%A5%E7%A8%8B%E7%B3%BB)等实验结果表明，添加豆油(作为氧载体)可提高法夫酵母发酵时的溶氧水平，促进虾青素的合成。前体物质的添加对红发夫酵母也具有显著的影响，朱晓立等[11]的研究发现通过向红发夫酵母发酵液中添加番茄汁、甲羟戊酸及β-胡萝卜素等物质均可使虾青素的产量增加。

植物激素又称植物内源激素，是植物体自身代谢所产生的有机物质，可以通过调节植物细胞或者微生物细胞的分裂与伸长、组织的分化、成熟与衰老等调控植物或者微生物的生长、发育和代谢物的积累。植物激素在较低浓度范围内对于细胞有明显的促进作用[12]。已有研究者发现适当添加植物激素能够进一步促进螺旋藻生长和代谢产物合成[13]，亦对海洋单细胞藻类和光合细菌具有促生作用[14]。另外，植物激素对真菌的生长和代谢方面也有一定的影响，吴克刚等[15]研究了6种植物激素对破囊壶菌MF2细胞的生长和二十二碳六烯酸（DHA）积累的影响，结果表明，赤霉素(GA)能促进DHA的合成，6-苄基腺嘌呤(6-BA)能显著促进真菌的生长，当添加2 mg/L GA和3 mg/L 6-BA时，可使DHA产量达到982 mg/L，比不添加时增加了139%。杨青等[16]研究了植物激素对裂殖壶菌生长与DHA含量的影响，结果显示，在添加3 mg/L 6-BA时，裂殖壶菌的生物量和DHA含量分别比对照组提高27.1%和30.0%。目前，尚未发现有关植物激素对红发夫酵母作用的研究报道。吲哚乙酸(IAA)、GA和6-BA是三种典型的植物激素，分别属于生长素，赤霉素和细胞分裂素类型。因此，本实验考察了3种不同植物激素IAA、GA和6-BA对红发夫酵母细胞生长及虾青素积累的影响，以期了解植物激素在红发夫酵母细胞生长及虾青素积累中的调控作用，为利用植物激素提高红发夫酵母发酵生产虾青素的效率提供实验依据。

**1 材料和方法**

**1.1材料**

**1.1.1 菌种**

红发夫酵母UV3-721(*Phaffia rhodozyma*)，由卢英华课题组实验室保存。

**1.1.2 试剂**

虾青素标准品由美国Sigma公司提供；各种无机盐及其他试剂购自国药集团化学试剂有限公司，均为分析纯。

**1.1.3 培养基**

1）斜面培养基(g/L)：酵母粉 10，蛋白胨 20，葡萄糖 20，琼脂 1.5-2.0%，pH 6.0，121 °C，灭菌20 min。

2）种子培养基(g/L)：酵母粉 10，蛋白胨 20，葡萄糖 20，pH 6.0，121 °C，灭菌20 min。

3）摇瓶培养基(g/L)：葡萄糖 20，酵母粉 0.2，硫酸铵 0.5，KH2PO4 1，NaCl 0.1，MgSO4·7H2O 0.5，CaCl2·2H2O 0.1，pH 6.0，121 °C，灭菌20 min。

4）各种植物激素分别配制成浓缩液，用0.22 m无菌膜过滤除菌，在-20 °C下保存，临用前置于室温使其融化。

**1.2 培养方法**

**1.2.1菌种保藏**

斜面保藏：取一环菌苔接入斜面培养基上，于22 °C培养48 h，于4 °C保存。

甘油管保藏：取一环菌苔接入种子培养基上，于22 °C，200 r/min摇床培养24 h，取菌液加入40%甘油，制成20%的甘油管，于-70 °C低温冷冻保存。

**1.2.2 种子培养**

菌种活化：将保存于- 70 °C的甘油管转接于平板培养基中，22 °C培养5 d。

一级种子：用接种环挑取活化的菌种，接种至装有30 mL种子培养基的250 mL三角烧瓶中，22 °C、200 r/min培养48 h。

二级种子 取3 mL一级种子液接种至装有30 mL种子培养基的250 mL三角烧瓶中，22 °C、200 r/min培养24 h。

**1.2.3 摇瓶培养**

取3 mL二级种子，接入装有30 mL摇瓶培养基的250 mL三角瓶中，22 °C、200 r/min培养120 h。本实验均做三平行，实验结果为三组的平均值。

**1.3 分析方法**

**1.3.1 细胞干重(Dry Cell Weight, DCW)的测量方法**

细胞干重的测定方法参见文献[17]。

**1.3.2 葡萄糖浓度的测定**

采用生物传感分析仪(SBA-40D，中国，山东)测定葡萄糖的浓度。

**1.3.3 总色素的提取与测定**

总色素的提取与测定方法参见文献[17]。

**1.3.4 虾青素的测定(高效液相色谱法)**

虾青素的测定方法参见文献[17]。

**2 结果与讨论**

**2.1溶氧对酵母生长和虾青素积累的影响**

在摇瓶分批发酵培养条件下，分别考察两种类型的摇瓶培养(250 mL普通摇瓶，250 mL凹槽摇瓶)对红发夫酵母细胞生长和虾青素积累的影响，结果如图1所示。

从细胞生长曲线（图1（a））可以看出，本实验所使用的红发夫酵母在生长过程中延滞期很短，接种后很快进入对数生长期，随着培养时间的延长，红发夫酵母的生物量在逐渐的增大，直至48 h进入稳定期。由图1（b）可知，菌体细胞在凹槽摇瓶培养中碳源的消耗速率与普通摇瓶培养相比要快得多。在凹槽摇瓶培养时，菌体在36 h基本消耗完了碳源；而在普通摇瓶培养中48 h才基本消耗完毕。与此相对应的，凹槽摇瓶培养中生物量(图1（a）)和总色素(图1（c）)在前48 h迅速增长，并在60 h和72 h分别获得最大值为18.63 g/L和184.69 mg/L。然而在普通摇瓶培养中，细胞的生长速度要慢得多，且最大的生物量和总色素产量明显较低，在96 h和120 h分别获得最大值仅为11.52 g/L和58.81 mg/L。由图1（c）和（d）可以看出，凹槽摇瓶培养中虾青素产量从24 h开始大量积累，并在120 h获得最大值为40.35 mg/L，虾青素产率为2.79 mg/g (图1（e）)。然而在普通摇瓶培养中，虾青素的积累较为缓慢且产量明显较低，120 h的产量仅为1.32 mg/L，虾青素产率为0.17 mg/g (图1（e）)。凹槽摇瓶培养获得的最大生物量、总色素和虾青素含量，与普通摇瓶培养相比，分别提高了61.7%，214.0%和2956.8%。由此可见，摇瓶类型不同，红发夫酵母的生长呈现了很大的差异。凹槽摇瓶培养与普通摇瓶培养相比，能够获得更高的生物量、总色素产量、虾青素产量和虾青素产率。







（a）生物量；（b）葡萄糖消耗；（c）总色素产量；（d）虾青素产量；（e）虾青素产率

图1 两种类型的摇瓶培养对红发夫酵母生长的影响

Fig.1 Effects of two different flasks on *P. rhodozyma* growth

分析认为凹槽摇瓶培养能提供更多的溶氧，红发夫酵母细胞的快速生长需要充足的氧气，故红发夫酵母在凹槽摇瓶培养中能更快地生长，进而导致菌体在凹槽摇瓶培养中能迅速地消耗碳源。相反，当菌体细胞在较低的溶氧下(即普通摇瓶中)培养，菌体吸收碳源时受到了抑制，以至于细胞生长也比较缓慢。因此，有着较高溶氧的凹槽摇瓶培养是有利于细胞生长的，进而消耗更多的碳源以维持细胞的呼吸和能量代谢。[Castelblanco-Matiz](http://apps.webofknowledge.com/DaisyOneClickSearch.do?product=WOS&search_mode=DaisyOneClickSearch&colName=WOS&SID=U2sAehj1sNWAs6BQldf&author_name=Castelblanco-Matiz,%20LM&dais_id=13315515&excludeEventConfig=ExcludeIfFromFullRecPage)等研究报道，红发夫酵母的色素积累与细胞生长成正相关，即菌体细胞浓度越高，获得的细胞内色素产量也越高，表明红发夫酵母的色素积累是一个与菌体生长相关的过程。由图1可知，总色素、虾青素的积累与细胞生长是同步进行的，即随着生物量的增加，总色素和虾青素产量也在增加。红发夫酵母在凹槽摇瓶培养中能获得较高生物量，虾青素产量及产率，是目前报道的微生物摇瓶发酵生产虾青素的较高值。据报道，朱龙宝等研究红发夫酵母在低氮及H2O2胁迫条件下虾青素的积累，得到虾青素最大产量及产率分别为4.307 mg/L和0.590 mg/g。朱晓立等通过流加番茄汁使红发夫酵母获得虾青素最大产量及产率分别为17.87 mg/L和1.318 mg/g。[Kim](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Kim%20JH%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) J H等利用统计分析优化培养基，根据模型计算可获得虾青素最大产量为36.16 mg/L。

**2.2 添加3种植物激素对虾青素合成的影响**

本研究考察了IAA、GA、6-BA 3种植物激素在不同添加时间对红发夫酵母生长和色素积累情况的影响。由图1生长曲线可知酵母生长24 h后虾青素含量开始逐渐增大，因此，实验选择在0 h和24 h下向发酵培养基中分别添加0.5 mg/L的IAA、GA和6-BA。

**2.2.1 0 h添加3种激素对酵母生长和虾青素积累的影响**

0 h添加3种植物激素的实验结果如图2所示。由图2（a）可知，0 h添加3种植物激素对菌体的生长均有促进作用，其中添加6-BA的实验组最有利于菌体的生长。菌体在36 h后进入稳定生长期，各个实验组的生物量分别在36 h或48 h达到最大值，其中添加6-BA的实验组在36 h生物量最高，为17.64 g/L，相比于对照组的14.87 g/L，提高了18.63%，添加GA和IAA的实验组对红发夫酵母细胞的生长也有不同程度的提升。分析认为0 h添加植物激素可促进蛋白质的生物合成，加速红发夫酵母细胞增殖分裂及扩大，因而对菌体的生长具有促进作用。

由图2（b）和（c）可知，在0 h添加3种植物激素后对虾青素的积累产生了不同的影响，其中添加0.5 mg/L 6-BA对虾青素产量具有明显的提高效果，在120 h达到最大值58.03 mg/L，较对照组的48.05 mg/L提高了20.77%，添加6-BA时虾青素的产率也较对照组提高了24.74%。而补加0.5 mg/L GA和IAA的实验组对虾青素合成的促进作用并不显著，且在120 h虾青素浓度有些许的下降，该结果表明在0 h时添加0.5 mg/L 6-BA有利于增加虾青素的产量。





（a）生物量；（b）虾青素产量；（c）虾青素产率

图2 0 h添加不同植物激素对红发夫酵母的生长及虾青素产量的影响

Fig.2 The effect of phytohormones addition at 0 h on the growth and astaxanthin production of *P. rhodozyma*

**2.2.2 24 h添加3种激素对酵母生长和虾青素积累的影响**

24 h添加植物激素的实验结果如图3所示。由图3（a）可知，24 h分别添加IAA、GA和6-BA对菌体生长的影响相近，均呈现一定程度的抑制作用，使得最终生物量低于对照组结果。该结果表明在24 h时添加外源植物激素不利于菌体的生长。

由图3（b）和（c）可知，在24 h分别添加的3种外源植物激素均抑制了虾青素的合成，使得虾青素产量明显低于对照组，且GA的抑制作用最为显著，IAA次之，6-BA抑制效果最弱，6-BA的加入在前72 h没有产生明显的促进或抑制作用，虾青素的产量和对照组接近，从72 h开始该实验组的虾青素产量逐渐低于对照组，直到发酵结束，而GA和IAA的添加使虾青素的积累从24 h开始就受到了抑制。这说明24 h添加植物激素对虾青素的积累产生了一定的抑制作用，不利于提高虾青素的产量。但同时也说明在3种植物激素中6-BA对菌体的生长及虾青素的积累具有一定的潜力。



（a）生物量；（b）虾青素产量；（c）虾青素产率.

图3 24 h添加不同植物激素对红发夫酵母的生长及虾青素产量的影响

Fig.3 The effect of phytohormones addition at 24 h on the growth and astaxanthin production of *P. rhodozyma*

由上述分析可知，在24 h分别添加的3种外源植物激素既不利于菌体的生长又不利于菌体细胞内虾青素的积累。这可能是因为24 h菌体已分裂生长繁殖一段时间，菌体已经启动了色素和虾青素的合成机制，发酵液中的营养物质主要是维持细胞的代谢平衡。此时添加外源植物激素改变了菌体的代谢环境，反而不利于细胞的生存，最终导致细胞生物量的下降，进而抑制虾青素的合成。因此，不适合在24 h时添加外源植物激素。

综上所述，0 h作为植物激素的添加时间点，对菌体生物量和虾青素的合成均有促进作用，最适的植物激素为6-BA。

**2.3 0 h添加不同浓度6-BA对酵母生长和虾青素积累的影响**

从以上分析结果确定0 h添加0.5 mg/L 6-BA对红发夫酵母的提高效果较为明显，因而实验设定6-BA的添加浓度选择在0.5 mg/L上下范围内的4个浓度：0.25，0.50，0.75和1.00 mg/L进行实验，培养过程中每12 h取一次样，测量各实验组的生物量及虾青素产量。

**2.3.1 0 h添加不同浓度6-BA对酵母生长的影响**

图4展示了0 h分别添加0.25，0.50，0.75和1.00 mg/L的6-BA后对生物量的影响。从图4（a）中可以看出，低浓度的6-BA对细胞生长有促进作用，而高浓度的6-BA促进作用不显著。培养至96 h时，添加0.25 mg/L 6-BA实验组对生物量的提升最多，为16.52 g/L，与对照组的14.67 g/L相比，提高了12.61%。由生长曲线的变化形式可以看出，6-BA主要影响了细胞对数生长期的长短，添加高浓度的6-BA(1.00 mg/L)反而不利于菌体的生长，在36 h生长速率就已经开始下降；而0.25 mg/L组的生长期最长，一直在72 h前都能保持较快的生长速率。因此，实验认为在0 h时添加0.25 mg/L 6-BA最有利于细胞生物量的积累。

**2.3.2 0 h添加不同浓度6-BA对虾青素积累的影响**

由图4（b）可以看出，在0 h添加四种浓度的6-BA均使得虾青素的产量得到了明显的提高，且促进作用随着添加6-BA浓度的增加而减弱，其中添加0.25 mg/L 6-BA对虾青素产量的提高效果最为明显，虾青素含量在96 h达到最大值58.02 mg/L，较对照组的46.58 mg/L提高了24.56%，该结果表明在0 h时添加6-BA有利于增加虾青素的产量。由图4（c）可知，0 h添加6-BA均提高了虾青素的产率，由图中曲线可以看出，以添加0.25 mg/L 6-BA最为显著，在96 h达到产率最大值3.512 mg/g，较对照组的3.174 mg/g 提高了10.65%，这说明在0 h添加低浓度的6-BA有利于提高虾青素的产率。

通过研究植物激素对红发夫酵母的影响，发现6-BA对其影响较大，关于其代谢机制尚不清晰，分析认为6-BA的加入可加速红发夫酵母细胞增殖分裂，相对延长了对数生长期，因而对红发夫酵母细胞的生长以及虾青素的积累均具有一定的促进作用。此外，由于6-BA的加入，可能促进了类胡萝卜素合成过程中相关酶活性的变化，从而影响了虾青素合成的代谢过程。植物激素的添加亦可能促进了代谢过程中相关基因的表达，进而间接的促进了代谢流，提高虾青素的积累；另一方面作为次级代谢产物的虾青素，一般是在培养液中某种营养物质匮乏或受到外界环境及物质刺激时启动，植物激素的加入可能作为一种外源的刺激物抑制了超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性或者是红发夫酵母菌体处在一种抑制的环境中，导致细胞内自由基增多，而虾青素具有清除自由基的作用，为了减少氧自由基对细胞的伤害，红发夫酵母大量生产虾青素以对抗不利的环境条件，从而促进了虾青素的积累[20-22]。





（a）生物量；（b）虾青素产量；（c）虾青素产率.

图4 0 h添加6-BA对红发夫酵母的生长及虾青素产量的影响

Fig.4 The effect of 6-BA addition at 0 h on the growth and astaxanthin production of *P. rhodozyma*

**3 结 论**

本研究对红发夫酵母不同培养方式及在菌体生长过程中激素添加的种类、时间、浓度进行了分析。实验结果表明凹槽摇瓶培养可使虾青素产量达到40.35 mg/L，比普通摇瓶培养时增加了2956.8%。在此基础上，实验确定了植物激素的最优添加时间及浓度为0 h添加0.25 mg/L 6-BA，在此添加条件下，虾青素的最大产量和产率分别为58.02 mg/L和3.512 mg/g，较对照组分别提高了24.56%和10.65%，这说明在细胞生长过程中添加植物激素有利于虾青素的积累。本研究结果表明植物激素对红发夫酵母细胞生长及虾青素积累存在一定的作用机制，但是具体调控机理尚没有研究报道，因此，有关红发夫酵母细胞对植物激素是如何吸收调控的，激素调控虾青素合成的代谢网络具体如何，还需要结合差异蛋白质组学及代谢组学等技术进行深一步的探索研究，以期从分子水平上阐明植物激素对红发夫酵母合成虾青素的调控机制，探索该类信号分子在红发夫酵母胞内的应答网络及其在虾青素合成中的作用机理。为实现红发夫酵母高密度生产虾青素奠定理论基础。

**参考文献：**

[1] CAMPOIO T R, OLIVEIRA F A, [OTTON](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Otton%20R%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) R. Oxidative stress in human lymphocytes treated with fatty acid mixture: Role of carotenoid astaxanthin[J]. Toxicology in Vitro, 2011, 25(7): 1448-1456.

[2] [PARK](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Park%20JS%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) J S, [MATHISON](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Mathison%20BD%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) B D, [HAYEK](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Hayek%20MG%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) M G, et al. Astaxanthin stimulates cell-mediated and humoral immune responses in cats[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2011, 144: 455- 461.

[3] [PREUSS](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Harry%20G.%20Preuss%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) H G, [ECHARD](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Bobby%20Echard%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) B, [BAGCHI](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Debasis%20Bagchi%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) D, et al. Astaxanthin lowers blood pressure and lessens the activity of the renin-angiotensin system in Zucker Fatty Rats[J]. Journal of Functional Foods, 2009, 1 (1): 13-22.

[4] HUSSEIN G, GOTO H, ODA S, et al. Antihypertensive potential and mechanism of action of astaxanthin. II, Vascular reactivity and hemorheology in spontaneously hypertensive rots[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2005, 28(6): 967-971.

[5] BON J A, LEATHERS T D, [JAYASWAL](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Radheshyam%20K.%20Jayaswal%29%20Illinois%20State%20University&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) R K, et al. Isolation of astaxanthin over-producing mutants of *Phaffia rhodozyma*[J]. Biotechnology Letters, 1997, 19(2): 109-112.

[6] RODRIGUEZ-SAIZ M, FUENTE J L D L, [BARREDO](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Jos%C3%A9%20Luis%20Barredo%29%20R%26D%20Biology%2C%20Antibi%C3%B3ticos%20S.A&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) J L. *Xanthophyllomyces dendrorhous* for the industrial production of astaxanthin[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 88:645-658.

[7] SCHMIDT I, SCHEWE H, [GASSEL](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28S%C3%B6ren%20Gassel%29%20Goethe%20University&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) S, et al. Biotechnological production of astaxanthin with *Phaffia* *rhodozyma*/*Xanthophyllomyces dendrorhous*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89: 555-571.

[[8] LIU](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X0700099X) Y S, [W](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X0700099X)U J Y. Optimization of cell growth and carotenoid production of *Xanthophyllomyces dendrorhous* through statistical experiment design[J]. [Biochemical Engineering Journal](http://www.sciencedirect.com/science/journal/1369703X), 2007, 36(1): 182-189.

[9] 朱龙宝, 葛飞, 魏胜华, 等. 氮饥饿/过氧化氢协同胁迫促进法夫酵母合成虾青素[J]. 食品工业科技, 2012, 33(11): 176-178.

[10] [梁新乐](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/author?cmd=authoruri&wd=authoruri%3A%28723b98e81f4ced5%29%20author%3A%28%E6%A2%81%E6%96%B0%E4%B9%90%29%20%E6%B5%99%E6%B1%9F%E5%B7%A5%E5%95%86%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E7%94%9F%E7%89%A9%E5%B7%A5%E7%A8%8B%E7%B3%BB), [励建荣](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/author?cmd=authoruri&wd=authoruri%3A%28bc24a66c66830271%29%20author%3A%28%E5%8A%B1%E5%BB%BA%E8%8D%A3%29%20%E6%B5%99%E6%B1%9F%E5%B7%A5%E5%95%86%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E9%A3%9F%E5%93%81%E4%B8%8E%E7%94%9F%E7%89%A9%E5%B7%A5%E7%A8%8B%E5%AD%A6%E9%99%A2), 陈敏, 等. [氧载体强化氧传递促进法夫酵母虾青素的合成](http://xueshu.baidu.com/s?wd=paperuri%3A%28fa61cc38524eba573dd3d0e8bc169852%29&filter=sc_long_sign&tn=SE_xueshusource_2kduw22v&sc_vurl=http%3A%2F%2Fwww.cnki.com.cn%2FArticle%2FCJFDTotal-JWXT200303016.htm&ie=utf-8&sc_us=2799813007091243314)[J]. [菌物学报](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/journal?cmd=jump&wd=journaluri%3A%2875856249bfad9555%29%20%E3%80%8A%E8%8F%8C%E7%89%A9%E5%AD%A6%E6%8A%A5%E3%80%8B&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dpublish&sort=sc_cited), 2003, 22(3): 424-429.

[11] 朱晓立, 梁世中, [邓毛程](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/author?cmd=authoruri&wd=authoruri%3A%28b6d7a20bc4f52ae5%29%20author%3A%28%E9%82%93%E6%AF%9B%E7%A8%8B%29%20%E5%B9%BF%E4%B8%9C%E8%BD%BB%E5%B7%A5%E8%81%8C%E4%B8%9A%E6%8A%80%E6%9C%AF%E5%AD%A6%E9%99%A2). 不同时间流加番茄汁对红法夫酵母生产虾青素的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29(11): 95-97.

[12] PARK W K, YOO G, [MOON](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Myounghoon%20Moon%29%20KAIST&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) M, et al. Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2013, 171:1128-1142.

[13] 陈颖, 赵培, [王雪青](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/author?cmd=authoruri&wd=authoruri%3A%28ec7c08ca8f9935bb%29%20author%3A%28%E7%8E%8B%E9%9B%AA%E9%9D%92%29%20%E5%A4%A9%E6%B4%A5%E5%95%86%E4%B8%9A%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E7%94%9F%E7%89%A9%E6%8A%80%E6%9C%AF%E4%B8%8E%E9%A3%9F%E5%93%81%E7%A7%91%E5%AD%A6%E5%AD%A6%E9%99%A2), 等. 3种植物激素对螺旋藻生长和代谢产物含量的影响[J]. 海洋科学, 2009, 33(2): 11-16.

[14] LU Y D, XU J. Phytohormones in microalgae a new opportunity for microalgal biotechnology[J]. Trends in Plant Science, 2015, 20(5): 273-282.

[15] 吴克刚, 柴向华, [杨连生](http://xueshu.baidu.com/usercenter/data/author?cmd=authoruri&wd=authoruri%3A%285c17c10269010181%29%20author%3A%28%E6%9D%A8%E8%BF%9E%E7%94%9F%29%20%E5%8D%8E%E5%8D%97%E7%90%86%E5%B7%A5%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E9%A3%9F%E5%93%81%E4%B8%8E%E7%94%9F%E7%89%A9%E5%B7%A5%E7%A8%8B%E5%AD%A6%E9%99%A2), 等. 植物激素对破囊壶菌生长与产DHA的影响[J]. 微生物学报, 2003, 43(1): 111-115.

[16] 杨青, 宋益民, [范鸣浩](http://xueshu.baidu.com/s?wd=authoruri%3A%2866af89585dc01817%29%20author%3A%28%E8%8C%83%E9%B8%A3%E6%B5%A9%29%20%E4%B8%AD%E5%9B%BD%E6%B5%B7%E6%B4%8B%E5%A4%A7%E5%AD%A6&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson&sort=sc_cited), 等. 植物激素对裂殖壶菌生长与DHA含量的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2011, 41(12): 053-057.

[17] 潘雪珊, 凌雪萍, 叶驰名, 等. 红发夫酵母生产虾青素的氮源补加策略[J]. 厦门大学学报, 2013, 52(4): 545-552.

[18] [CASTELBLANCO-MATIZ L M](http://apps.webofknowledge.com/DaisyOneClickSearch.do?product=WOS&search_mode=DaisyOneClickSearch&colName=WOS&SID=U2sAehj1sNWAs6BQldf&author_name=Castelblanco-Matiz,%20LM&dais_id=13315515&excludeEventConfig=ExcludeIfFromFullRecPage), [BARBACHANO-TORRES A](http://apps.webofknowledge.com/DaisyOneClickSearch.do?product=WOS&search_mode=DaisyOneClickSearch&colName=WOS&SID=U2sAehj1sNWAs6BQldf&author_name=Barbachano-Torres,%20A&dais_id=5698970&excludeEventConfig=ExcludeIfFromFullRecPage), [PONCE-NOYOLA](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Teresa%20Ponce-Noyola%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) T, et al. Carotenoid production and gene expression in an astaxanthin-overproducing *Xanthophyllomyces dendrorhous* mutant strain[J]. Archives of Microbiology, 2015, 97(10): 1129-113.

[19] [KIM](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Kim%20JH%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) J H, [KANG](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Kang%20SW%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) S W, [KIM](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Kim%20SW%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) S W, et a1. High-level production of astaxanthin by *Xanthophyllomyces dendrorhous* mutant JH1 using statistical experimental designs[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2005, 69(9): 1743-1748.

[20] MENG C X, WEI W, SU [Z](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Su%20Z%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson), et a1. Characterization of carotenoid hydroxylase gene promoter in *Haematococcus pluvialis*[J]. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 2006, 43(5): 284-288.

[21] MENG C X, CHENG W L, [ZHONG](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Zhong%20Liang%20Su%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) L S, et a1. There are two 5’-flanking regions of bkt encoding beta-carotene ketolase in the *Haematococcus pluvials*[J]. Phycologia, 2006, 45(2): 218-224.

[22] CLARKE S F, GUY P L, [BURRITT](http://xueshu.baidu.com/s?wd=author%3A%28Burritt%20DJ%29%20&tn=SE_baiduxueshu_c1gjeupa&ie=utf-8&sc_f_para=sc_hilight%3Dperson) D J, et al. Changes in the activities of antioxidant enzymes in response to virus infection and hormone treatment[J]. Physiologia Plantarum, 2002,114(2): 157-164.

**Effects of Dissolved Oxygen and Phytohormones on Growth and Astaxanthin Production of *Phaffia rhodozyma***

PAN Xueshan, DAI Lingmei, LU Yinghua, LING Xueping\*

(The Key Laboratory for Synthetic Biotechnology of Xiamen City, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract**: The dissolved oxygen and additives remarkably affected astaxanthin biosynthesis in *Phaffia rhodozyma*. In this study, the effects of three different phytohormone on cell growth and astaxanthin production by *P. rhodozyma* were studied. The results showed that, the significant improvements for cell growth and astaxanthin yield by the batch mode in the baffled flasks were achieved. Then the optimal phytohormone was determined as 6-BA and its optimized adding concentration and time were 0.25 mg/L at 0 h. The highest astaxanthin yield of 58.02 mg/L and the maximum astaxanthin productivity of 3.512 mg/g were achieved, which were 24.56% and 10.65% higher than the control group, respectively. It indicated that it was beneficial to improve astaxanthin accumulation by feeding phytohormone, which established the fundament for large-scale high-density production.

**Key words:** astaxanthin; *Phaffia rhodozyma*; dissolved oxygen; phytohormone

1. **收稿日期：**2016-12-21  **录用日期：**2017-03-31

   **基金项目**：厦门市科技计划项目(3502Z20121021)；厦门大学校长基金( 20720160077)

   **\*通信作者：**xpling@xmu.edu.cn [↑](#footnote-ref-2)