

脱水螺旋藻细胞复水后在不同光强下的谱学性质

杨芳^{1,2}, 涂芳¹, 白燕¹, 郑文杰^{1,2*}

1 暨南大学化学系, 广东 广州 510632

2 暨南大学水生生物研究所, 广东 广州 510632

摘要 将冷冻干燥处理后的极大螺旋藻干粉(脱水细胞)悬浮于NaCl等渗盐水中并添加葡萄糖和尿素,分别置于暗室、自然光照环境和培养箱中,在2, 14, 26 h后分别测定其吸收光谱、荧光发射和激发光谱的变化。结果表明:在相同时间下,藻细胞复水后的光谱特征峰随光强的不同呈现有规律的下降,暗室下的复水藻细胞特征峰强度最高,而放置在光照培养箱的则最低。说明在水分胁迫和光抑制的双重作用下,经过冷冻脱水的藻细胞复水后无法恢复其正常的光合作用。

关键词 极大螺旋藻; 冷冻脱水; 复水; 谱学性质

中图分类号: Q945.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)04-0660-04

引言

光源是藻类和植物进行光合作用必不可少的条件之一。然而在强光下,大多数植物的光合作用会下降,强光胁迫下植物光合作用的光抑制现象受到越来越多研究者的关注。1956年Kok就提出光抑制的原初作用位点是PS_{II}的反应中心,目前认为光抑制大致可以分为两个过程:(1)PS_{II}反应中心失活和修复的循环;(2)通过降低对光能的吸收和增强激发能的耗散来避免PS_{II}反应中心的过度激发^[1]。强光下过量的光能必须耗散掉,否则会损伤植物的光合机构,尤其是对PS_{II}的损伤更为严重^[2],植物长时间曝露在强光下,不仅会发生光合作用的光抑制,而且会引起叶绿素的光氧化。随着研究的深入,人们发现光抑制不仅对光系统有损伤作用,同时它还是光系统适应过量光强的一种保护机制。

经过冻干处理后的螺旋藻脱水细胞复水后,与鲜活细胞的光谱相比发生了明显的变化^[3]。将脱水细胞悬浮在水溶液中可能由于藻细胞内外渗透压的原因,导致藻细胞溶胀,从而使光谱发生改变,为了进一步探讨干燥后光能对复水细胞的光合作用,观察藻细胞中水分在维持生物分子构象、能量的捕获和传递中的作用,本文探讨了将脱水细胞重新悬浮于NaCl等渗盐水中,添加葡萄糖和尿素以补充碳源和氮源,并放置在不同的光强下的光谱变化。

1 实验部分

1.1 藻种及培养条件

极大螺旋藻(*S. maxima*),藻种由暨南大学水生生物研究所藻种室提供,本实验室保种。

在250 mL三角烧瓶中加入100 mL Zarrouk培养液,调节藻的初始OD₅₆₀为0.1。三角烧瓶用两层滤纸封口并放于培养箱中培养,光照强度5 000 Lx左右,光暗比为14:10 h,温度(30±1)℃,pH值8.5,每天定时摇匀3次,并添加蒸馏水以补充水分蒸发。

1.2 螺旋藻细胞的光谱测定

将经过冻干处理后的极大螺旋藻脱水细胞悬浮于NaCl等渗盐水中,避光放置30 min,然后加入等体积的Zarrouk培养基(含0.3%的葡萄糖和0.03%的尿素)。调初始OD₅₆₀=0.2。平分3份,分别置于暗室中,自然光和培养箱中(光:暗比为14:10 h)。于2, 14, 26 h后测定三者的吸收及荧光光谱。

2 结果与讨论

2.1 UV-Vis吸收光谱的变化

脱水螺旋藻细胞复水后分别放置于暗室、自然光照环境和培养箱中,经过不同时间的吸收光谱见图1所示。由图1可知,复水后的藻细胞在2 h的吸收光谱与正常藻细胞的光谱相同,出现440和680 nm处叶绿素a的吸收峰,620 nm处藻蓝蛋白的吸收峰以及490 nm处类胡萝卜素的肩峰;此时光强的影响不明显,但以培养箱中的细胞吸收最弱。14 h后除叶绿素a的吸收峰外,藻蓝蛋白和类胡萝卜素的吸收峰

收稿日期: 2006-01-06, 修订日期: 2006-07-19

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(05103295)和广东省自然科学基金团队项目(039213)资助

作者简介: 杨芳,女,1976年生,暨南大学化学系讲师 * 通讯联系人 e-mail: tzhwj@jnu.edu.cn

©1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

消失。26 h 后, 只有叶绿素 a 在 680 nm 处的吸收较明显; 而且不同光强下, 培养箱中培养的复水细胞的吸收此时呈现最强, 其原因可能是在光照培养箱中放置 14 h 之后, 藻呈现浑

浊的乳白色, 故吸收增强, 但 26 h 后培养箱中细胞在 680 nm 处的吸收峰实际上已经很弱了。

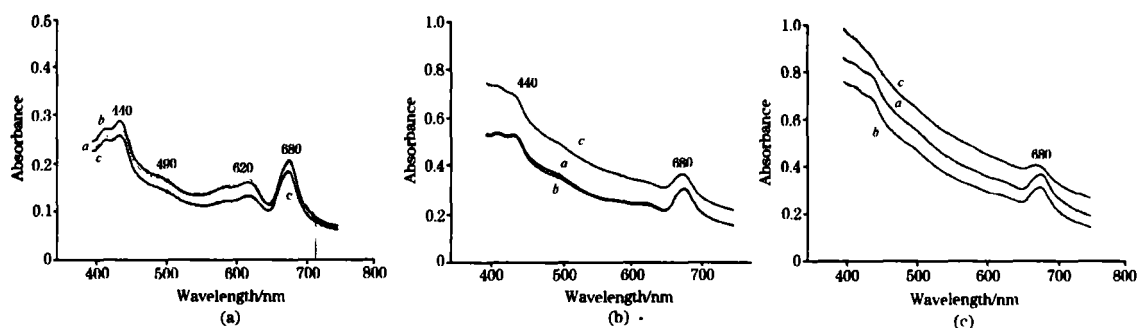


Fig 1 Absorption spectra of water-reabsorbing cells of *Spirulina maxima*

(a): After 2 h; (b): After 14 h; (c) After 26 h; a: Darkness; b: Natural light; c: Culture illumination

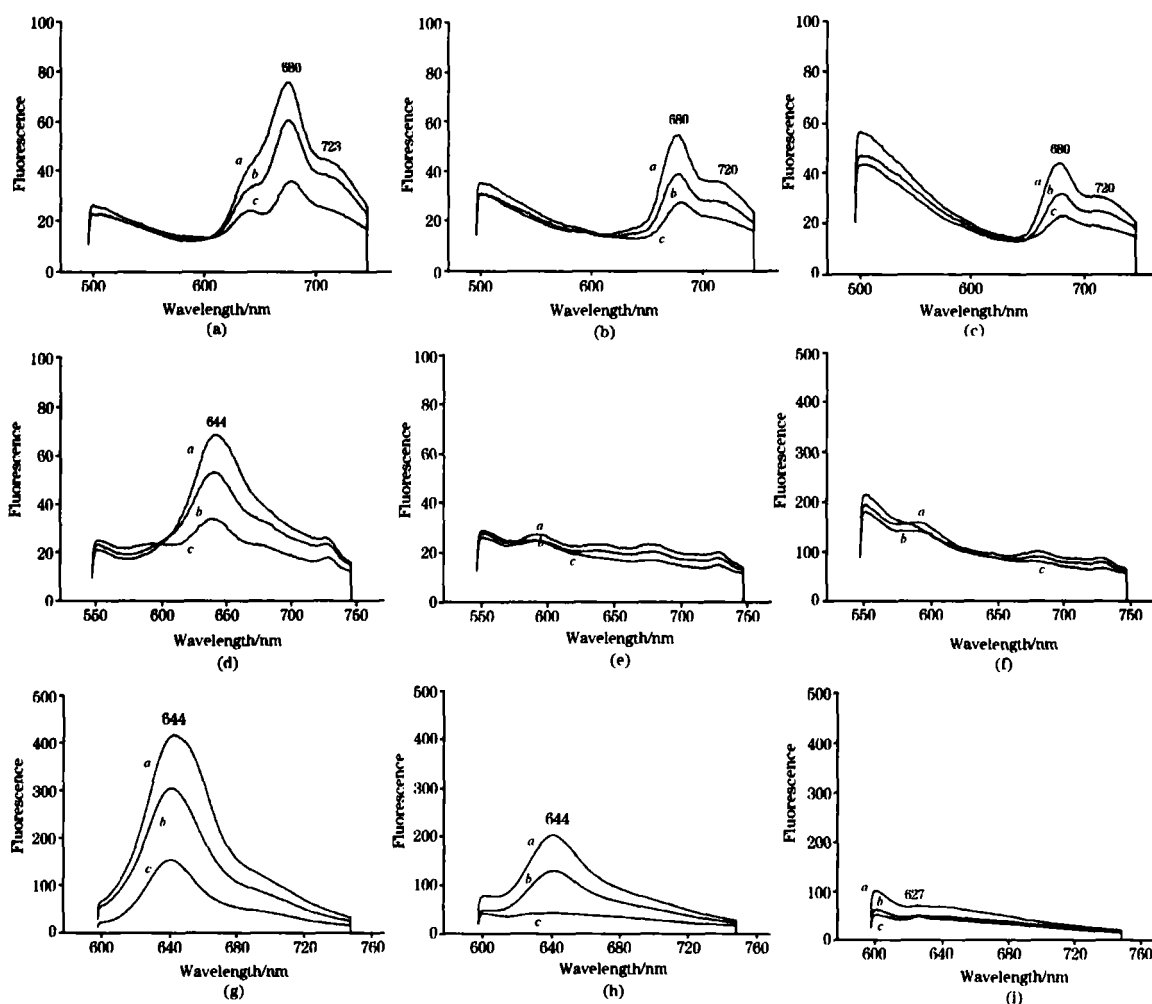


Fig 2 Fluorescence emission spectra of water-reabsorbing cells of *Spirulina maxima*

(a): After 2 h, $\lambda_{ex} = 440$ nm; (b): After 14 h, $\lambda_{ex} = 440$ nm; (c): After 26 h, $\lambda_{ex} = 440$ nm;
(d): After 2 h, $\lambda_{ex} = 490$ nm; (e): After 14 h, $\lambda_{ex} = 490$ nm; (f): After 26 h, $\lambda_{ex} = 490$ nm;
(g): After 2 h, $\lambda_{ex} = 580$ nm; (h): After 14 h, $\lambda_{ex} = 580$ nm; (i): After 26 h, $\lambda_{ex} = 580$ nm

2.2 荧光光谱的变化

2.2.1 荧光发射光谱

藻胆色素、类胡萝卜素) 和光能在其中传输过程的不同而异^[4]。螺旋藻细胞在 440, 490 和 580 nm 三个激发波长处的荧光发射光谱见图 2。由图中可见, 以 440 nm 激发时, 在不

同光强下均出现 680 nm 的强发射峰和 720 nm 左右的弱的肩峰, 680 nm 处为别藻蓝蛋白-B 的发射峰, 720 nm 处为叶绿素的发射峰^[5, 6], 这与正常生长的藻细胞光谱相似, 但暗室培养的细胞荧光强度最大。而以 490 nm 的光激发时, 复水藻细胞的发射峰出现在 644 nm 处, 正常藻细胞的发射峰为 732 nm。由于冻干过程中对藻细胞造成一定的损伤, 因此复水藻细胞的光合系统受到一定的影响, 导致能量不能正常的传递给 732 nm, 最终以藻蓝蛋白的发射形式释放出来。由于藻蓝蛋白的不稳定, 随着时间的延长, 其强度逐渐下降, 最终锐峰消失。同样以 580 nm 激发的发射光谱图中也观察到发射峰的位置在藻蓝蛋白的发射处, 且随着时间的延长, 藻蓝蛋白的发射减弱。而鲜活细胞的发射峰来自藻胆体(660 nm), 这也说明了经冷冻脱水藻细胞中藻胆体已经严重损伤。虽然激发峰不同, 荧光发射峰出现的位置不同, 但光强对复水藻细胞的影响却相似, 均表现为相同条件下以暗室培养的荧光强度最大, 培养箱中的荧光强度最小。

从荧光光谱图中还可以看出, 14 h 后以 490 nm 激发时, 发射峰强度不明显, 可见类胡萝卜素的电子传递作用已大大

降低, 26 h 后以 580 nm (蓝光) 激发所得的发射峰强度也明显降低, 说明此时的藻蓝蛋白的电子传递作用基本停滞, 而叶绿素的发射峰在 26 h 依然可见。说明了复水藻细胞中的色素会依次分解, 其降解的次序依次为: 类胡萝卜素> 藻蓝蛋白> 叶绿素, 强度会随着时间的延长而降低, 光则会加剧这种影响。

2.2.2 荧光激发光谱

不同光强、不同时间复水藻细胞的荧光激发光谱见图 3 所示, 复水初期, 藻细胞的激发峰出现在 600 和 625 nm, 与正常生长的藻细胞光谱相似, 其中 625 nm 处的峰为藻蓝蛋白的激发峰。这说明螺旋藻细胞悬浮水溶液其主要的捕光色素仍是藻蓝蛋白, 而别藻蓝蛋白主要是传递光能的, 对捕光的贡献较小。随着时间的增加, 激发峰强度均减弱, 但 600 nm 的峰减弱速度更快; 26 h 后原激发峰消失, 且位置发生改变, 但此时峰的强度已大大降低。藻细胞在相同时间、不同光强下, 均以暗室培养的激发峰强度最大, 培养箱中培养的细胞 14 h 后激发峰已不明显。而且时间越长, 光强的影响也越小。

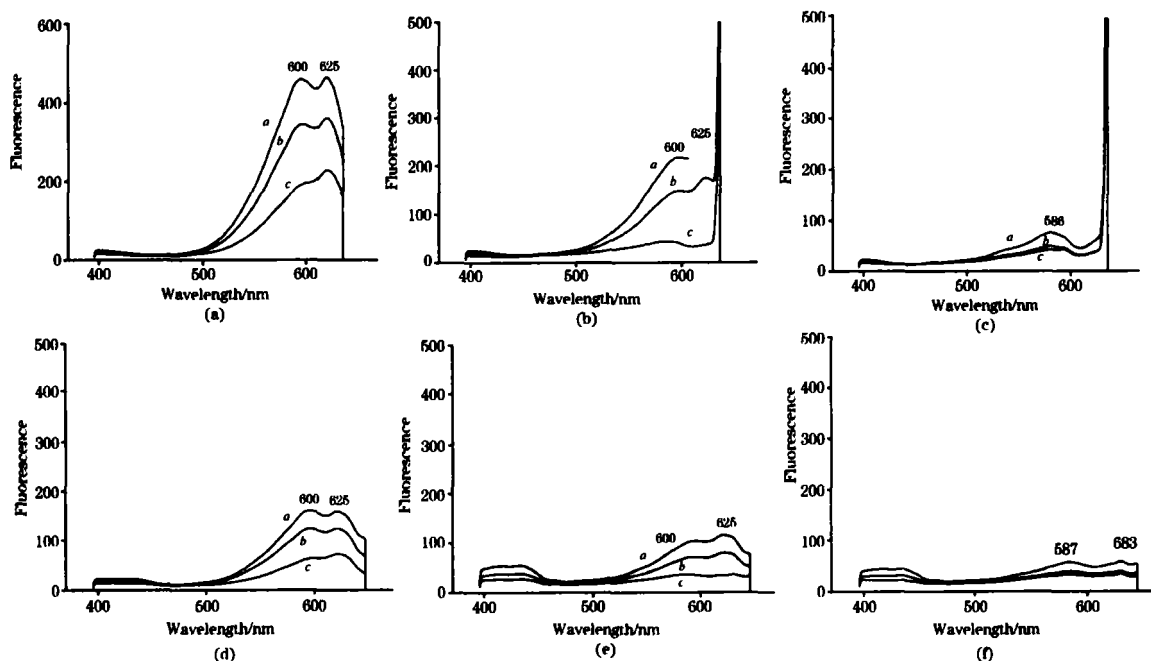


Fig 3 Fluorescence excitation spectra of aqueous suspension of re-absorbing cells

(a): After 2 h, $\lambda_{em} = 644$ nm; (b): After 14 h, $\lambda_{em} = 644$ nm; (c): After 26 h, $\lambda_{em} = 644$ nm;

(d): After 2 h, $\lambda_{em} = 680$ nm; (e): After 14 h, $\lambda_{em} = 680$ nm; (f): After 26 h, $\lambda_{em} = 680$ nm;

a: Dark; b: Natural light; c: Culture illumination

3 结论

通过对不同光强、不同时间下脱水螺旋藻细胞复水后的光谱观察可以发现, 在同一时间内, 复水藻细胞的光谱特征峰随光强的不同呈现有规律的下降, 暗室下培养的复水藻细胞特征峰强度最高, 而放置在光照培养箱的则最低。说明光对复水细胞有一定的损伤, 由于冷冻脱水的藻细胞中的PS 光合作用基本停止工作, 复水后藻细胞的光合系统尚未完全

恢复, 光照会加剧损伤, 在光照培养箱中放置 14 h 之后, 可以看到藻的颜色逐渐变淡, 最后变成浑浊的乳白色。而在暗室中培养的复水藻细胞的颜色却能保持很长一段时间。说明冷冻脱水后的藻细胞复水后, 不能进行正常的光合作用, 光对复水细胞有一定的损伤。由于复水藻细胞中的光合系统遭到损伤, 在水分胁迫下, 可能导致叶绿素¹O₂ (单线态氧) 大量产生。而¹O₂ 在光合色素的降解过程中起着重要的作用^[7], 而类胡萝卜素和维生素 E 均存在于叶绿体膜系统上, 它们可将叶绿素光敏化产生的¹O₂ 直接猝灭^[8]。但在复水细

胞中,类胡萝卜素最先降解,对光抑制没有产生保护作用,而强光会加剧 $^1\text{O}_2$ 的产生。在水分胁迫和光抑制的双重作用

下,经过冷冻脱水处理的藻细胞复水后无法恢复其正常的光合作用。

参 考 文 献

- [1] HAN Bo-ping, HAN Zhi-guo, FU Xiang(韩博平,韩志国,付祥). Algal Photosynthesis: Mechanisms and Models(藻类光合作用机理与模型). Beijing: Science Press(北京:科学出版社), 2003.
- [2] Barber J. Aust. J. Plant Physiol., 1995, 22: 201.
- [3] TU Fang, ZHENG Wen-jie, YANG Fang, et al(涂芳,郑文杰,杨芳,等). Journal of Jinan University(Natural Science)(暨南大学学报·自然科学版), 2004, 25(5): 621.
- [4] ZHAO Nan-jing, LIU Wen-qing, LI Hong-bin, et al(赵南京,刘文清,李宏斌,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(9): 1460.
- [5] ZHOU Zhi-gang, YIN Chang-song(周志刚,尹长松). Journal of Shanghai Fisheries University(上海水产大学学报), 2002, 11(3): 208.
- [6] ZHANG Xi-ying, LIU Li-ning, CHEN Xi-lan, et al(张熙颖,刘鲁宁,陈秀兰,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(10): 1224.
- [7] JIANG Ming-yi, GUO Shao-chuan(将明义,郭绍川). Journal of Integrative Plant Biology(植物学报), 1996, 38(10): 797.
- [8] CHEN Yong-qiang, HUANG Qiang-wei(陈由强,黄羌维). Plant Physiology Communications(植物生理学通讯), 1987, 23: 1.

The Spectra of Water-Reabsorbing *Spirulina Maxima* at Different Light Intensity

YANG Fang^{1, 2}, TU Fang¹, BAI Yan¹, ZHENG Wen-jie^{1, 2*}

1. Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510632, China

2. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract The freeze-dried cells of *Spirulina maxima* were resuspended in NaCl isotonic solution under the condition of darkness, natural light and culture illumination respectively. Their spectra were studied after the *Spirulina maxima* was treated for 2, 14 and 26 h respectively. The results indicated that the peak intensity decreased gradually at different light intensity but in the same time span. The peak intensity was the highest when *Spirulina maxima* was put in darkness, but lowest under culture illumination. The water-reabsorbing *Spirulina maxima* couldn't restore the normal photosynthesis under the dual stress of both water and light.

Keywords *Spirulina maxima*; Freeze-dehydrated; Water-reabsorbing; Spectrum property

(Received Jan. 6, 2006; accepted Jul. 19, 2006)

* Corresponding author