

紫外辐射对铜绿微囊藻中类菌胞素氨基酸(MAAs)的诱导效应*

叶凯雄, 刘康, 詹领

(武汉大学生命科学院, 科学研究训练实验室 湖北, 武汉 430072)

摘要:用 8 w 紫外灯, 距离藻 10 cm, 以 5 min/d、10 min/d、20 min/d 连续照射 6 d 的间断处理和连续照射 1 h、1.5 h、2 h、3 h、6 h、12 h 的连续处理两种方式处理铜绿微囊藻, 测得水溶性色素提取液在 200~400 nm 间的吸收光谱与对照组相比较, 没有产生新的吸收峰, 说明 MAAs 的产生不需要紫外线的诱导。同时随着紫外辐射剂量的增加, MAAs 的含量先增加, 当达到一定的辐射剂量之后, MAAs 的含量随着紫外辐射剂量的增加而减小。

关键词:铜绿微囊藻; 类菌胞素氨基酸(MAAs); 紫外辐射(UVR); 诱导效应

中图分类号: Q949.208

文献标识码: A

文章编号: 1006-8376(2008)01-0025-04

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)是我国乃至世界众多富营养化湖泊藻类群落的重要优势种之一。如何控制铜绿微囊藻引发的水华受到了长期关注。太阳辐射中的紫外辐射(UVR)过强会对植物产生损伤, 不同种类的水生植物对太阳辐射具有不同的适应能力。类菌胞素氨基酸(mycosporine-like amino acids, MAAs)是一类普遍存在于水生生物中的, 最大吸收峰在 310~360 nm 之间的水溶性物质, 对紫外辐射有较高的吸收能力, 被认为有保护细胞、减少 UVR 损伤的功能^[1]。铜绿微囊藻中也含有 MAAs。初步鉴定有 shinorine 和 porphyra-334 两种, 但以 shinorine 为主。MAAs 的紫外辐射吸收功能可能是铜绿微囊藻形成水华的机制之一^[2]。

目前有相关实验表明, 铜绿微囊藻在室内低光照、几乎无 UVR 的条件下, 同样合成 MAAs, 即 MAAs 的合成不需要紫外线的诱导^[2]。但也有实验在研究铜绿微囊藻对紫外线的适应及其种内差异时, 发现经紫外线照射后, 三种铜绿微囊藻都在 265 nm 处产生了新的水溶性物质, 认为是 MAAs^[3]。这两种结论相矛盾。而铜绿微囊藻中 MAAs 含量与紫外辐射量的关系国内目前尚无相关研究。铜绿微囊藻中 MAAs 的产生是否需要紫外线的诱导? MAAs 存在于细胞内还是被分泌到细胞外? MAAs 的含量与紫外辐射量具有怎样的关系, 是否呈正相关? 这三个问题正是我们实验所关注的。

1 材料与方法

收稿日期: 2007-12-12

作者简介: 叶凯雄, 男(1986-), 本科生;

* 武汉大学大学生业科研基金资助项目, 在本院生物学实验教学中心大学生科学研究训练实验室完成。指导教师: 陈进明。

1.1 材料

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*), 株系 FACHB905(购自中国科学院水生生物研究所淡水藻藻种库)。

1.2 方法

1.2.1 培养条件

铜绿微囊藻于盛有 BG11 培养基的 250 mL 锥形瓶中培养, 培养温度控制在 25℃ 左右, 光源为 40 w 日光灯一盏, 光周期 12:12。

1.2.2 MAAs 存在位置的鉴定

取处于生长稳定期的铜绿微囊藻藻液 8 mL 离心, 上清以培养基作对照, 测定 200~400 nm 范围的吸收光谱。采用甲醇法提取水溶性色素(见 1.2.4), 用体积分数 30% 甲醇溶液为对照, 测定 200~400 nm 范围的吸收光谱。

1.2.3 紫外线处理

将处于生长稳定期的铜绿微囊藻接种于培养皿中, 接种量为 20 mL, 紫外光源为 8 w 紫外灯管 1 只, 光源距培养皿 10 cm, 以两种时间方式处理。一种为间断处理, 连续 6 d, 每天处理时间分别为 5 min, 10 min, 20 min; 另外一种为连续处理, 分别为 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 6 h, 12 h。每天晚上进行紫外照射, 处理完之后正好置于黑暗中同步进行暗处理, 其余处理方式跟培养条件相同。

1.2.4 细胞中水溶性色素提取和吸收光谱的测定

水溶性色素提取采用甲醇法。取 8 mL 藻液离心去上清, 加体积分数 30% 甲醇 3 mL, 震荡使沉淀悬浮, 50℃ 水浴 30 min, 8000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 上清液即为水溶性色素提取液, 用 30% 甲醇溶液为对照, 测定 200~400 nm 范围的 OD 值。

2 结果

2.1 MAAs 存在位置鉴定结果

采用 1.2.2 方法处理得到吸收光谱(如图 1、图 2),从图中可以看出上清在 330 nm 处无 MAAs 特征性吸收峰,而藻体沉淀的甲醇提取液在 330 nm 处出现 MAAs 特征性吸收峰。

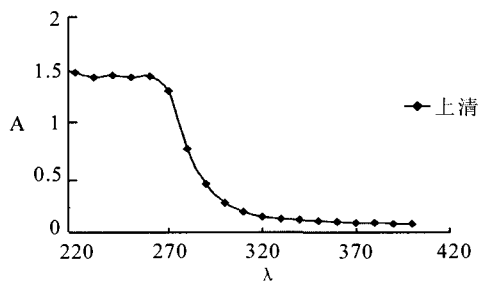


图 1 稳定期藻液离心分离后上清中水溶性色素于 220 ~ 400 nm 处吸收谱

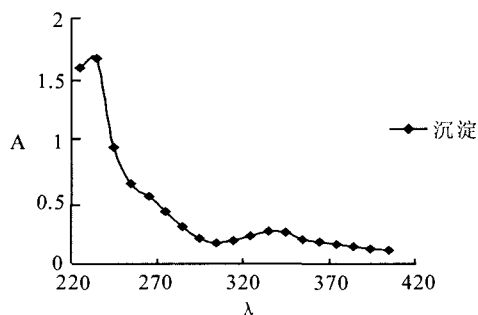


图 2 稳定期藻液离心分离后沉淀中水溶性色素于 220 ~ 400 nm 处吸收谱

2.2 UVR 诱导的结果

三组实验分别用 UVR 5 min/d, 10 min/d, 20 min/d 处理 6 d, 得到吸收光谱如图 3, 图 4, 图 5, 三种处理方式得到类似的结果:处理组和对照组的吸收光谱具有基本相同的模式,在 220 nm、330 nm 处有两个吸收峰。

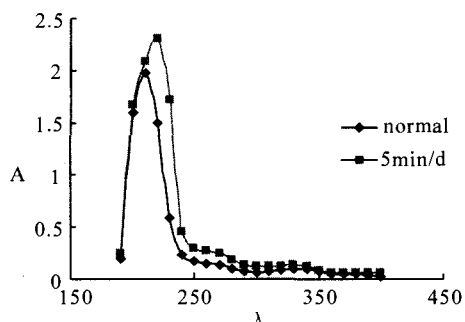


图 3 UVR 5min/d 处理 6 d 后铜绿微囊藻水溶性色素于 220 ~ 400 nm 处吸收谱

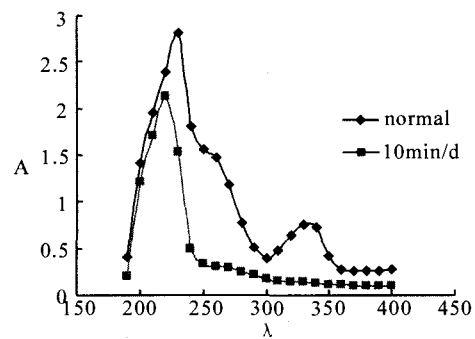


图 4 UVR 10min/d 处理 6 d 后铜绿微囊藻水溶性色素于 220 ~ 400 nm 处吸收谱

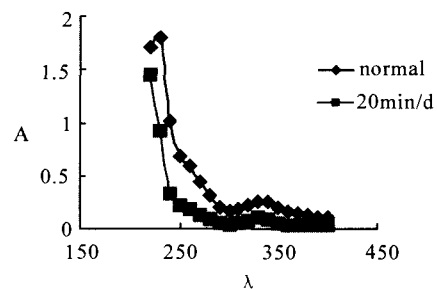


图 5 UVR 20min/d 处理 6 d 后铜绿微囊藻水溶性色素于 220 ~ 400 nm 处吸收谱

2.3 UVR 剂量与 MAAs 含量关系的实验结果

UVR 连续处理 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h 和 3 h, 6 h, 12 h, 得到两组结果如图 6, 7。连续处理 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 得到结果 MAAs 含量随照射时间的增加依次有细微的增加。而 3 h, 6 h, 12 h 的一组处理的结果 MAAs 的含量随照射时间的增加依次减少。两组实验中处理组 MAAs 含量相对对照组都有显著下降。

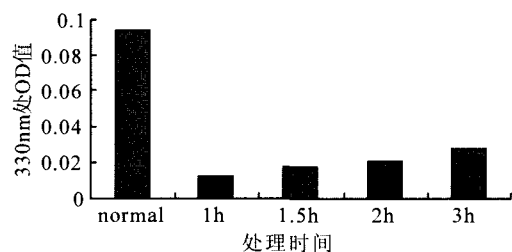


图 6 UVR 连续处理 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h 后 MAAs 含量与辐射量间的关系

3 讨论

3.1 MAAs 存在于细胞内

MAAs 存在位置的鉴定结果表明,上清的吸收光

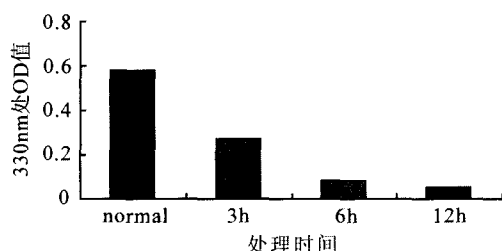


图7 UVR连续处理3h, 6h, 12h后MAAs含量与辐射量间的关系

谱在330nm处没有吸收峰,而藻体沉淀提取液的吸收光谱在此处有吸收峰,说明上清液中不存在MAAs,而藻体沉淀提取液中有MAAs。由于上清液是藻细胞外的溶液,因此该结果也即说明MAAs是存在于细胞内,而不是分泌到细胞外。

3.2 MAAs的产生不需要紫外线的诱导

三种紫外线处理得到了同样的结果:UVR处理后吸收光谱与对照组相比并没有明显变化,没有新的吸收峰产生,说明没有诱导产生新的水溶性色素。现在已知的MAAs的相关性质表明,其吸收波长在310~360nm之间,因此对照组和处理组中330nm处的吸收峰对应的很可能是MAAs。因此,铜绿微囊藻中MAAs的产生可能是不需要紫外线诱导的。该实验结果与刘正文等的相同,但与陈小兰等的相矛盾。

对比刘正文等^[2]与陈小兰等^[3]的实验,在无紫外线处理组中,两者实验材料的区别主要在株系的层次上,而结果存在较大的区别:陈小兰等实验在330nm处没有吸收峰^[2],刘正文等的实验结果在330nm处有吸收峰^[3]。我们认为如果MAAs是铜绿微囊藻对紫外线辐射的一个长期的适应机制,那么在各个株系应该不会存在这么大的差异。考虑到两者在实验中采取不同的MAAs提取方法,可能是该方法的不同造成了这种结果的差异。

在本实验中我们部分采取了陈小兰等^[3]的实验方法,使用的铜绿微囊藻也是一样的——均购于中科院水生所,株系同为FACHB905,但得到矛盾的结果:我们采取了同样的水溶性色素提取法,对比无紫外线处理组,陈小兰等实验在330nm处没有吸收峰,我们实验结果在330nm处有吸收峰^[3],而且从峰高来判断,可知MAAs的相对含量不大。再对比紫外线处理组的结果,我们实验结果表明在水溶性色素吸收谱中没有产生新的吸收峰,陈小兰等的实验结果是在265nm处产生了新的吸收峰^[4],并且从

峰高来判断,产生的新物质的含量相对较大。但已有的研究表明,MAAs这一类物质的吸收波长在310~360nm之间,因此我们认为陈小兰等的实验结果中新产生的物质可能不属于MAAs。

综合以上的分析,我们认为铜绿微囊藻中MAAs的产生可能并不需要UVR的诱导。

3.3 UVR在一定剂量范围内对MAAs具有微弱的诱导效应

两组实验综合表明,UVR照射时间从1h, 1.5h, 2h到3h,随着照射时间的增长,相应的MAAs测得量也有微量的增加。而照射时间从3h, 6h到12h,相应MAAs的含量却是随着时间增长而减少。由于照射时间的增长意味着紫外辐射剂量增加,因此我们猜测:在一定的紫外辐射范围内,UVR对铜绿微囊藻中的MAAs具有微弱的诱导效应,MAAs含量随UVR剂量的增加而增加,而超过该辐射范围后,也即超过一定的阈剂量后,MAAs的含量随UVR剂量的增加而减少。

另外,UVR处理后MAAs含量与对照组相比降低了,同时,参照大部分紫外线处理结果——吸收光谱与对照组比较下降了,即紫外线处理后各物质的含量均较为显著地降低了。虽然紫外线的照射可能抑制了藻的生长、物质的合成,也可能使得大部分物质分解,但这些都不能合理解释整个光谱的下移。更可能的原因是紫外辐射使得藻细胞裂解死亡,细胞内涵物释放,由于该实验的实验方法中首先的离心处理是收集沉淀——主要是藻细胞,因此,死亡细胞释放的内涵物可能随着上清液被倾倒了,即,测得的OD值仅能代表尚未死亡分解的细胞中含有的MAAs。因此,该实验中MAAs的含量应该是紫外线诱导效应、杀伤效应等综合作用的结果。

3.4 进一步研究的建议

可进一步研究紫外辐射与MAAs含量间的定量关系,进而研究紫外辐射的作用机制,即它是如何引起MAAs含量的增加的,另一方面,可以研究MAAs是如何实现紫外保护的,即它的增加是如何消减紫外辐射的负面效应的^[4,5]。

参考文献

- [1] 陈小兰,邓国宾,刘开庆,陈善娜.水生生物紫外光保护物质——类菌胞素氨基酸[J].植物学通报,2006,23(1):78~86.
- [2] 杨顶田,陈伟民,张运林,刘正文.太湖梅梁湾水体中紫外线状况及藻体内MAAs的检测[J].武汉植物学研究,2004,22(3):264~268.

- [3] 陈小兰,陈善娜,朱志明,彭俊,夏小环. 铜绿微囊藻对 UV - B 的适应及其种内差异[J]. 云南大学学报——自然科学版 2005,3
- [4] 刘正文,钟萍,韩博平. 铜绿微囊藻中紫外线保护物质类菌孢素氨基酸(MAAs)与水华形成机制的探讨[J]. 湖泊科学,2003,15(4):359~363.
- [5] 杜宁,高天翔,缪锦来,张波涛,王守强,王斌. 4种南极冰藻中抗紫外辐射活性化合物类菌孢素氨基酸(MAAs)的初步研究[J]. 中国海洋药物杂志,2007,26(4):5~10

The Inductive Effect of Ultraviolet Radiation on Mycosporine - like Amino Acids (MAAs) in *Microcystis aeruginosa*

YE Kai - xiong, LIU Kang, ZHANG Ling

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The culture of *Microcystis aeruginosa* were subjected to artificial UVR using a 8w ultraviolet lamp at a distance of 10cm in two time methods: respectively 5min/d, 10min/d, 20min/d in 6 days; respectively 1h, 1.5h, 2h, 3h, 6h, 12h at one time. The absorption spectra of methanolic extract of algae culture before and after UVR treatment were compared. The results showed that: (1) The induction of UVR was not necessary for the synthesis of MAAs; (2) The content of MAAs in *Microcystis aeruginosa* increased at first and then declined with the augment of the dose of UVR.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; mycosporine - like amino acids (MAAs); ultraviolet radiation (UVR); inductive effect