

研究简报

光合抑制剂 DCMU 对异养生长蓝藻叶绿素合成的作用

余利红^{1,2} 郭厚良¹ 徐旭东² 冯 勃²

(1. 武汉大学生命科学学院, 武汉 430072; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

EFFECT OF THE PHOTOSYNTHESIS INHIBITOR DCMU ON CHLOROPHYLL SYNTHESIS IN HETEROTROPHIC CYANOBACTERIA

YU Li-hong^{1,2}, GUO Hou-liang¹, XU Xu-dong² and FENG Bo²

(1. College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072;

2. Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词: DCMU; 叶绿素合成; 蓝藻; 异养生长

Key words: DCMU; Chlorophyll synthesis; Cyanobacteria; Heterotrophic growth

中图分类号: Q949.22 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2002)01-0102-003

与被子植物不同, 蓝藻叶绿素的合成存在依赖于光和不依赖于光的两条途径^[1], 故异养生长的蓝藻在黑暗条件下同样合成叶绿素。在不同营养条件下, 蓝藻的叶绿素合成也相对稳定, 其含量常作为生物量的指标。已知DCMU是一种光合作用抑制剂, 阻断光系统 II 向质体醌的电子传递。有报道显示, DCMU 可调控蓝藻 *Calothrix* 的细胞分化^[2]。但 DCMU 对于蓝藻叶绿素合成的作用从未见报道。在对表达 *glk* 和 *lacZYA* 基因蓝藻的异养生长研究中^[3], 作者发现 DCMU 显著抑制丝状固氮蓝藻的叶绿素合成, 而对单细胞蓝藻没有影响。

1 材料和方法

1.1 藻株和培养 含 pRL2224 的鱼腥藻 PCC7120、FA CHB709 或集胞藻 PCC6803 在含 5μg/mL 红霉素和 5mol/L 乳糖的 BG11 培养液中静置培养。光照强度为 50—100μE/cm²/s, 黑暗异养生长时用铝铂纸严密包裹培养瓶; DCMU 加至 5mol/L。

1.2 硅胶板薄层层析 离心收集 5—10mL 藻液, 根据细胞浓度调整体积以使不同样品藻量基本相同。细胞重悬于 0.5mL 甲醇, 避光放置过夜。离心沉淀细胞后上清用于薄层层析或吸收光谱测定。点样量 6—10μL, 展层剂为 2:1 的石油醚-丙酮。

1.3 吸收光谱测定 蓝藻活体细胞或甲醇提取的色素溶液用 UV-1601 分光光度计 (Shimadzu) 在 400—800nm 波长范围内扫描测定吸收值。

收稿日期: 2001-04-28; 修订日期: 2001-07-01

基金项目: 中国科学院“百人计划”; 生物领域创新青年科学家小组项目资助

作者简介: 余利红(1975—), 女, 河南省焦作市人; 现在中国科学院水生生物所工作

通讯作者: 徐旭东 Email:xux@ihb.ac.cn

2 结果和讨论

通过表达葡萄糖激酶基因和乳糖操纵子的三个结构基因, 鱼腥藻 PCC7120、FACHB709 和集胞藻 6803 获得了利用乳糖异养生长的能力。其中, 鱼腥藻可在完全黑暗或光照加 DCMU 条件下生长; 集胞藻 6803 可在光照加 DCMU 条件下生长, 但无任何光激活时不能异养生长^[3]。在转基因藻的异养生长研究中, 作者发现, 加 DCMU 利用乳糖生长的鱼腥藻(pRL2224) 外观上偏蓝色, 而不加 DCMU 时光照生长或在黑暗条件下异养生长时藻体偏绿色。集胞藻 6803(pRL2224) 在以上条件下颜色无明显差异。多次重复实验显示 DCMU 作用和异养生长鱼腥藻颜色的变化存在恒定的关系。以硅胶板薄层层析分离蓝藻光合色素, 发现加 DCMU 时鱼腥藻叶绿素含量大幅减少(结果另报道)。对蓝藻的甲醇提取液和整细胞进行光谱扫描测定, 证实不同种类异养生长蓝藻叶绿素合成受 DCMU 的影响是不同的。在甲醇提取液的吸收光谱中, 约 435nm 和 665nm 处为叶绿素吸收峰^[4], 475nm 处为类胡萝卜素吸收峰。整细胞吸收光谱中叶绿素吸收峰为 440nm 和 680nm, 约 630nm 处为藻胆蛋白和其它藻胆体成分复合吸收峰^[5, 6]。含 pRL2224 的鱼腥藻 PCC7120 或 FACHB709 的吸收光谱显示, DCMU 的存在显著抑制异养生长鱼腥藻的叶绿素合成(图 1a, b; 图 2a, b)。藻胆蛋白含量相对增多使得藻体外观上偏蓝色。根据类胡萝卜素、藻胆蛋白含量, 尤其是吸收光谱的总体形状判断, 叶绿素含量的大幅度变化确由 DCMU 的抑制作用引起, 而不能归因于样品处理过程中可能带来的细胞量的微小差异。在完全黑暗条件下利用乳糖生长的鱼腥藻 PCC7120 的吸收光谱与在光照条件下不加 DCMU 培养时无差异(图 1a, b)。与鱼腥藻不同, 不论有无 DCMU, 集胞藻 6803(pRL2224) 叶绿素的合成不受影响, 各种色素的相对含量也基本上一致(图 3a, b)。除吸收峰位置在仪器误差范围内略有变动外, 以上光谱扫描结果在三次独立的实验中完全一致。

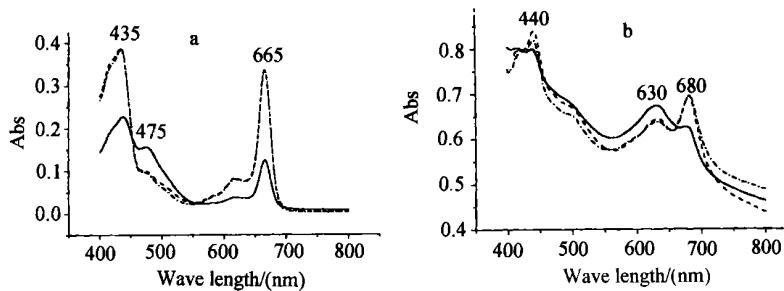


图 1 BG11 加乳糖培养的鱼腥藻 7120(pRL2224) 的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of *Anabaena* 7120 (pRL2224) grown in BG11 added lactose

a. 甲醇提取液 Methanol extracts; b. 完整细胞 Intact cells

. (—) 光照加 DCMU Illumination with DCMU; . (· · ·) 光照不加 DCMU Illumination without DCMU;
. (---) 黑暗 Dark

DCMU 显著抑制鱼腥藻叶绿素的合成, 而对集胞藻叶绿素合成没有影响, 表明其作用可能是对丝状固氮蓝藻特异的。由于 DCMU 是光合作用抑制剂, 它对于叶绿素合成的抑制可能与阻断光合电子传递链有关。但是, 在完全黑暗条件下, 利用乳糖生长的鱼腥藻 7120(pRL2224) 吸收光谱波形与不加 DCMU 光照时相一致, 表明光合传递链的阻断本身并不是抑制叶绿素合成的原因。在光照加 DCMU 时, 一方面光系统 I 从质体醌夺取电子, 另一方面质体醌又不能从光系统 II 取得电子, 故呈氧化状态。而在黑暗条件下, 质体醌不会向光系统 II 传递电子, 从乳糖代谢取得的质子可能使之维持在还原状态, 与不加 DCMU 光照生长的藻细胞相当。已有证据表明, 在另一类丝状固氮蓝藻 *Calothrix*^[2], 质体醌的氧化-还原状态调控细胞的分化。故推测, 在某些鱼腥藻中, DCMU 对叶绿素合成的作用可能是调节质体醌的氧化-还原状态的结果。

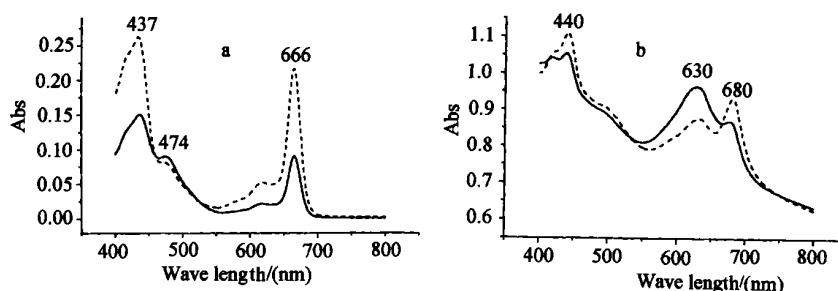


图 2 BG11 加乳糖培养的鱼腥藻 709(pRL2224) 的吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectra of *Anabaena* 709 (pRL2224) grown in BG11 added lactose
(a、b、 、 图例同图 1)

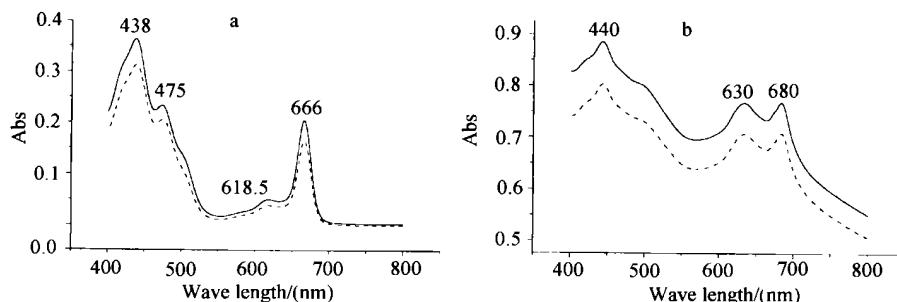


图 3 BG11 加乳糖培养的集胞藻 6803(pRL2224) 的吸收光谱

Fig. 3 Absorption spectra of *Synechocystis* 6803 (pRL2224) grown in BG11 added lactose
(a、b、 、 图例同图 1)

参考文献:

- [1] Beale S. Biosynthesis of cyanobacterial tetrapyrrole pigments: hemes, chlorophylls, and phycobilins [C]. Bryant D. The Molecular Biology of Cyanobacteria. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994. 519– 558
- [2] Campbell D, Houmard J, Tandeau de Marsac T. Electron transport regulates cellular differentiation in the filamentous cyanobacterium *Calothrix* [J]. *The Plant Cell*, 1993. 5: 451– 463
- [3] 余利红, 郭厚良, 徐旭东. 表达 *glk* 和 *lacZYA* 基因的蓝藻的异养生长 [J]. 水生生物学报, 2002, 26(2)
- [4] Mackinney G. Absorption of light by chlorophyll solutions [J]. *J Biol Chem*, 1941, 140: 315– 322
- [5] Shen G, Boussiba S, Vermaas F J. *Synechocystis* sp PCC 6803 strains lacking photosystem II and phycobilisome function [J]. *The Plant Cell*, 1993, 5: 1853– 1863
- [6] Cai Y A, Schwartz S H, Glazer A N. Transposon insertion in genes coding for the biosynthesis of structural components of the *Anabaena* sp. phycobilisome [J]. *Photosynthesis Res*, 1997. 53: 109– 120