

暹罗鱼腥藻空间飞行突变株 的光合特性分析*

王高鸿 陈浩峰 刘永定^{**} 宋立荣

(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

摘要 对经空间飞行搭载而获得的暹罗鱼腥藻突变株的分析发现,与对照相比,它在生长率和光合效率方面明显较高,进一步分析其光合色素的组成,叶绿素荧光及 PSII/PSI 比值,发现突变株的 PC/Chl 比值明显低于对照藻株,而叶绿素荧光高于对照,PSII/PSI 比值是对照藻株的 1.7 倍,在其它光合色素的比例上也有差异。分析这些结果表明,突变株与对照株在光合特征上有差异可能是突变株在色素系统的改变引起光能捕捉和光能利用上更为高效的原因。

关键词 暹罗鱼腥藻, 突变株, 光合特性, 光合色素, 叶绿素荧光

对 1996 年经返回式卫星搭载的暹罗鱼腥藻进行培养, 分离到一株特殊的突变株, 它与对照株相比表现为藻丝加长、细胞壁变薄、生长率提高及固氮酶活性增加等^[1,2]。分析它的光合作用, 发现其光合效率明显高于对照株。本文通过对突变株的光合效率测定, 结合光合色素组成和叶绿素荧光等测试手段, 对突变株光合效率提高的原因进行了分析。

1 材料与方法

暹罗鱼腥藻(*Anabaena siamensis*)对照株来源于中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻类藻种库(FACHB), 突变株来源于对照株经卫星搭载后经单克隆分离得到。两个藻株均培养在 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 光照为 $10\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 培养基为无氮的 BG11 培养基。

1.1 生长曲线的测定 利用 752 型紫外光栅分光光度计测定藻的 OD_{665nm}(叶绿素 a 的吸收峰)。

1.2 光合放氧的测定和 P700 含量的测定 利用 Clark 氧电极测定藻的放氧率, 参照 Kawamura 等的方法^[3]; 参照 Kawamura 等的方法, 利用 Shimadzu 的 UV - 1601 测定 P700 的含量。

1.3 光合色素组成的测定 参照 de Marsac 等人的方法⁽⁴⁾。

1.4 叶绿素荧光的测定 利用 Hansatech 的 PEA 测定完整细胞的叶绿素荧光⁽²⁾, 测定条件: 温度 28°C, 光照强度为 $300\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 照光程度 100%, 记录时间 5s, 暗适应 5min。

* 中国科学院水生生物研究所所长基金和国家载人航天工程项目资助

** 通讯联系人

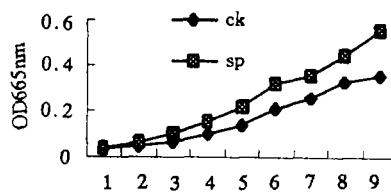
1999-08-02 收到; 1999-09-02 修回

以上测定至少重复 3 次, 取平均值.

2 结果

2.1 突变株比对照株生长加快

分离得到的暹罗鱼腥藻突变株生长速度高于对照藻株(图 1). 在以相同浓度接种, 相同培养条件下培养发现, 突变株在接种后第二天其 OD_{665nm}就表现出比对照藻株很高的生长率, 并且这一趋势一直保持到第 9d.



培养天数 culture days

图 1 暹罗鱼腥藻突变株与对照株的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of mutant and normal strain of *A. siamensis*

CK: normal strain SP: mutant

2.2 突变株与对照株相比具有较高的光合放氧活性

在不同的光强下测定突变株与对照株的放氧率发现, 突变株在 25 μE·m⁻²·s⁻¹、50 μE·m⁻²·s⁻¹、100 μE·m⁻²·s⁻¹、200 μE·m⁻²·s⁻¹各个光强时的放氧率几乎相当于对照株的二倍(图 2). 在 500 μE·m⁻²·s⁻¹光强时, 对照藻株出现了一定程度的光抑制而突变株的放氧率依然在增加. 由此可见, 突变株的光合效率比对照藻株要高, 同时在光合作用最大容量上, 突变株也比对照藻株要大. 由于在藻类中, 放氧功能是由光系统 II 执行的, 放氧率的大小可以反应出 PSII 活性的大小, 突变株在放氧率上高于对照藻株, 这就意味着突变株的 PSII 活性比对照藻株高.

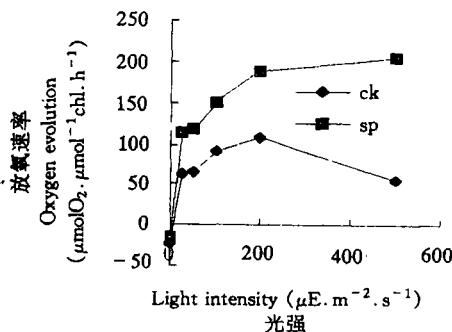


图 2 暹罗鱼腥藻突变株与正常株的光合放氧活性

Fig. 2 Photosynthetic oxygen evolution activities of mutant and normal strain of *A. siamensis*

CK: normal strain SP: mutant

2.3 突变株比对照有较高的 P700 含量 (P700 的单位为 $\mu\text{mol/L}$, chla $\mu\text{mol/L}$)

P700 含量反应着 PSI 中心色素含量的大小,从测定的结果可以得知(表 1),突变株的 PSI 中心色素含量比对照藻株的略高,中心色素含量在一定程度上反应 PSI 活性的大小,因此突变株与对照藻株相比,其 PSI 活性相对略高。

表 1 暹罗鱼腥藻突变株和对照株中的 P700 含量

Tab. 1 The value of P700 in mutant and normal strain of *A. siamensis*

	对照藻株	突变株
P700 含量	13.34 ± 0.02	14.49 ± 0.02

2.4 突变株与对照藻株的 PSII/PSI 比值

(PSII 大小用在光强为 $100\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时的放氧率表示)

用放氧率表示 PSII 活性大小,用 P700 含量表示 PSI 活性大小,这两者之间的比值就可在一定程度反应 PSII 与 PSI 在藻细胞上的分布比例。从表 2 可知,突变株比对照藻株在 PSII/PSI 比例上明显加大,增加 1.7 倍。

表 2 暹罗鱼腥藻突变株和对照株中的 PSII/PSI 比值

Tab. 2 The ratio of PSII/PSI in mutant and normal strain of *A. siamensis*

	对照藻株	突变株
PSII/PSI	4.84 ± 0.05	8.23 ± 0.05

2.5 突变株与对照株在光合色素组成上有差异

在蓝藻中,执行捕光和光能传递作用的主要色素是 PC、AP 和 PE,而光反应中心色素是 Chla。从表 3 得知突变株的 PC/Chl 只相当于对照藻株的 59%,这在一定程度上可反应出在突变株中 PC 的相对含量较少。而突变株的 PC/AP 比例比对照藻株高出 70%,这表明突变株的 AP 的相对含量较对照低。在 PE/AP 的比例上,突变株比对照略高。

表 3 暹罗鱼腥藻突变株和对照藻株中不同色素的比例

Tab. 3 The ratio of different pigments in mutant and normal strain of *A. siamensis*

	PC/Chl	PC/AP	PE/AP
对照藻株	0.69 ± 0.02	1.38 ± 0.04	6.09 ± 0.02
突变株	0.41 ± 0.01	2.36 ± 0.04	7.51 ± 0.03

2.6 突变株比对照株有较高的叶绿素荧光

叶绿素荧光可反应植物光合作用的大小。从对突变株与对照藻株的叶绿素荧光的结果来看(表 4),突变株比对照藻株有较高的 Fv/Fm,在加入 PSII 的抑制剂 DCMU 时,突变株 Fv/Fm 的降低程度比对照藻株要多。

表 4 暹罗鱼腥藻突变株和对照藻株中的 Fv/Fm 值

Tab. 4 The value of Fv/Fm in mutant and normal strain of *A. siamensis*

	Fv/Fm	Fv/Fm (暗适应后加 $20\mu\text{mol/L}$ DCMU)
对照株	0.448 ± 0.05	0.366 ± 0.04
突变株	0.457 ± 0.04	0.356 ± 0.02

3 讨论

经过卫星搭载,对空间飞行后的藻进行单克隆培养,获得了具有稳定性状的突变株,这个突变株的生长速率较对照藻株高出不少,从图1就可以看出。当这两株藻共同培养在同一培养容器中时,过一段时间就会发现,由于竞争的作用,突变株几乎完全取代了对照。同时在连续转接许多次时,突变株仍然保持很高的生长率。这就证实,经过空间卫星搭载,确实可以达到改良生物性状的效果。对这个突变株的研究发现,其光合效率明显高于对照藻株。由于光合作用研究是空间生物学效应研究中的一个重要方面,同时也在空间生命支持系统中占据着重要地位,因此有必要深入研究。空间飞行后暹罗鱼腥藻突变株在光合色素系统上变化较大。在突变株中,PC蛋白的相对含量比较低,同时其AP的相对含量也比较低,而PE的相对含量比较高(表3)。在藻胆体中,PC和AP分布在藻胆体复合物的表面,主要起着收集光能的作用,而PE位于藻胆体的基部,主要起着光能传递的作用。在一些藻类的培养中,Nakajima等人发现,降低捕光色素的相对含量可以提高光合作用的活性,同时也可降低光抑制作用^[5-7]。我们对突变株的研究发现,光合效率的提高伴随有藻蓝蛋白相对含量的降低,同时突变株在对照藻株发生光抑制的情况下,依然保持较高的光合活性。这些结果进一步验证了Nakajima等人的结论。藻蓝蛋白含量降低为什么能提高微藻的光合作用活性,我们认为,这有可能使能量的捕捉和利用更为高效,同时也避免了过多的光能损伤PSII而使光合过程的运转受到抑制。在突变株中PE的相对含量比较高这一点对于藻胆体内光能的传递有可能具有重要意义。我们在利用低温荧光光谱测定时也注意到突变株的藻胆体-内囊体膜复合物的光能传递较对照藻株的效率较高(此结果另文发表)。突变株的另一个重要特征就是其PSII/PSI较对照藻株高出70%,这很有可能就是突变株具有较高光合活性和较高的对光抑制的抵抗作用的原因。在叶绿素荧光实验中,突变株表现出较高的Fv/Fm,这就从另一个侧面表明突变株具有较高的光合作用效率。同时结合PSII抑制剂DCMU抑制实验^[8],我们发现,突变株的Fv/Fm下降的幅度比对照藻株大,这表明DCMU对突变株的PSII影响要比对照藻株大,这一点与前面所得到的突变株的PSII/PSI比值较大相吻合,间接证实了突变株中PSII相对含量较高。由以上的这些结果证实,我们获得的暹罗鱼腥藻突变株具有的高效光合作用是由于空间环境引起的突变使得藻株在捕光色素系统和两个光系统之间的改变而造成的,同时这也证明了降低微藻细胞中捕光色素的相对含量可以对提高微藻的产量具有促进作用。

参 考 文 献

- [1] 陈浩峰,傅缨,宋立荣等.返回式卫星搭载暹罗鱼腥藻返地后的细胞学观察.空间科学学报,1997, 17(增):102-106
- [2] 陈浩峰,宋立荣,刘永定等.空间环境对微藻种群增长及其生理特征的影响.空间科学学报,1997, 17(增):67-70
- [3] Kawamura M, Mimuro M, Fujita Y. Quantitative relationship between two reaction centers in the photosynthetic system of blue-green algae. *Plant Cell Physiol.*, 1979, 20(4):697-705
- [4] de Marsac N T, Hounard J. Complementary Chromatic Adaptation: Physiological Conditions and Action Spectra.

- Methods in Enzymology*, 1988, 167:318 – 328.
- [5] Nakajima Y, Tsuzuki M, Ueda R. Reduced photoinhibition of a phycocyanin-deficient mutant of *Synechocystis* PCC6714. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 10:447 – 452
- [6] Nakajima Y, Ueda R. Improvement of photosynthesis in dense microalgal suspension by reduction of light harvesting pigment. *Journal of Applied Phycology*, 1997, 9:503 – 510
- [7] Melis A, Neidhardt J, Benemann J R. *Dunaliella salina* (Chlorophyta) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 10:515 – 525
- [8] Srivastava M, Bhaya D, Bose S. Changes in the antenna size of Photosystem I and Photosystem II in *Synechococcus* sp. strain PCC7942 grown in the presence of SANDOZ 9785 – a Photosystem II inhibitor. *Photosynthesis Research*, 1994, 41:303 – 313

STUDIES ON PHOTOSYNTHETIC CHARACTERISTICS OF A SPACEFLIGHT MUTANT OF *ANABAENA SIAMENSIS*

Wang Gaohong Chen Haofeng Liu Yongding and Song Lirong

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract It was found that the mutant of *Anabaena siamensis* which was obtained from monoclonal culture of spaceflight *Anabaena* is of higher growth rate and photosynthetic efficiency than the ground control. To explain the differences between the mutant and the control, The composition of pigments, chlorophyll fluorescence and the ratio of PSII/PSI was investigated. Results showed that the ratio of PC/Chl in mutant was lower than that in the control, but the chlorophyll fluorescence and the ratio of PSII/PSI were higher than those in the control. The results suggested that the higher efficiency in energy harvesting and in energy utilization of the mutant than those of the control is due to the photosynthetic characteristic discrepancy.

Key words *Anabaena siamensis*, Mutant, Photosynthetic characteristics, Photosynthetic pigment, Chlorophyll fluorescence