

Ni 元素对铜绿微囊藻的生长、光谱特性 及藻胆蛋白含量的影响*

刘洁¹, 常学秀¹, 黄丽娟¹, 马志刚²

(1. 云南大学 生态学与环境科学系, 云南 昆明 650091; 2 云南大学 化学系, 云南 昆明 650091)

摘要: 为了探讨微量元素对蓝藻水华生长的影响及其机理, 研究了不同浓度 Ni 对铜绿微囊藻生长、光谱特征及藻胆蛋白含量的影响, 结果表明: Ni 元素对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa* 905) 的生长、光谱特性及藻胆蛋白含量均有影响。Ni 元素在低质量浓度 ($< 0.10 \mu\text{g}/\text{mL}$) 下促进藻细胞生长, 高质量浓度 ($0.30 \sim 1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$) 下抑制其生长; Ni 元素处理使藻细胞吸收光谱峰位红移、吸光值降低, 表明 Ni 元素使叶绿素和藻胆蛋白变性, 抑制了藻细胞的吸光能力; Ni 元素在较低质量浓度 ($< 0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$) 下使藻胆蛋白的吸收峰值升高, 在较高质量浓度 ($0.40 \sim 1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$) 下则使其降低; Ni 元素在低质量浓度 ($< 0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$) 下会使藻蓝蛋白 (PC) 含量增加, 高质量浓度 ($0.40 \sim 1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$) 下则使其减少; 不论在高质量浓度还是低质量浓度下, 均使别藻蓝蛋白 (APC) 含量减少。

关键词: Ni; 铜绿微囊藻; 吸收光谱; 藻胆蛋白

中图分类号: X 171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2005)04-0365-04

滇池水体处于重富营养化状态, 水华爆发严重, 浮游植物以蓝藻和绿藻为优势类群, 蓝藻生物量占优势, 蓝藻门的铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 是形成滇池“水华”的优势种, 在数量上和发生频率上都占绝对优势^[1,2]。云南属于金属元素背景值较高的地区, 而滇池土样中 Cu, Pb, Zn, Ni, Mn 等 5 种金属元素含量还高于云南省的土壤背景值^[3]。研究微量元素对铜绿微囊藻的影响十分必要。

蓝藻属于原核生物, 细胞结构简单, 无核膜和叶绿体, 其光合器是类囊体, 类囊体上附着着的藻胆体将捕获的光能高效传递给 PS, 在光合作用中起到重要的作用^[4,5]。藻胆蛋白是存在于某些藻类(主要是红藻、蓝藻)的藻胆体中的一类色素复合蛋白, 是藻胆体的主要构成。金属元素是影响蓝藻生长及光合作用的一个重要因素^[6]。藻胆体是金属元素的重要作用位点之一^[7]。至今, 关于金属元素影响蓝藻及藻胆蛋白的研究报道, 多集中在 Cu, Pb, Zn 等元素对经济型种类螺旋藻的影响^[5~9], 未见对微囊藻影响的研究, 也很少研究 Ni 元素的作用。

本实验研究了滇池流域背景值较高的金属元素之一 Ni 元素对铜绿微囊藻的生长、光谱特性及藻胆蛋白含量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 藻种 本研究所用藻种为铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 905 号标准藻, 由中国科学院武汉水生生物研究所提供。

1.1.2 藻细胞培养 以 HGZ-145 培养基为基础培养基, 添加 $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 配制含有不同 Ni 浓度的培养基。根据已做过的测定, 滇池水中 Ni 质量浓度约为 $0.3 \mu\text{g}/\text{mL}$, 在其上下取值, 设定 A, B, C, D, E, F 6 个处理组, Ni 质量浓度分别为 $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ (A), $0.10 \mu\text{g}/\text{mL}$ (B), $0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$ (C), $0.40 \mu\text{g}/\text{mL}$ (D), $0.50 \mu\text{g}/\text{mL}$ (E), $1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$ (F), 其中 A 组为对照样。接种后在光照培养箱中恒温 (26 ± 1) 培养, 光照周期为 12 12 (h)。光照培养箱由广东省医疗器械厂生产, 型号为 LRH-250-G 型。

* 收稿日期: 2005-02-10

基金项目: 国家重点基础研究发展规划课题基金资助(2002CB412306)。

作者简介: 刘洁(1981-), 女, 云南人, 硕士生, 主要从事污染生态学方面的研究。

1.2 测定方法

1.2.1 藻细胞生长曲线测定 使用 752 型紫外光栅分光光度计,每天相同时间测定藻液在 663 nm 的吸光度(OD 值),绘制生长曲线。

1.2.2 藻细胞光谱测定 当藻细胞长到一定浓度时(OD₆₆₃为 0.15 左右),采用周志刚等的方法^[10],使用日本岛津 SHIMADZU UV - 2401pc 扫描分光光度计室温下测定藻液在 400~750 nm 间的吸收光谱。

1.2.3 藻胆蛋白光谱测定 当藻细胞长到一定浓度时(OD₆₆₃为 0.15 左右),将藻液 4 500 r/min 离心 15 min,弃去上清液,得到藻体。然后参照文献[11]的方法提取藻胆蛋白,使用日本岛津 SHIMADZU UV - 2401pc 扫描分光光度计室温下测定藻胆蛋白提取液的吸收光谱。

1.2.4 藻胆体含量计算 参照孙晓筠等的方法,根据藻蓝蛋白(PC)和别藻蓝蛋白(APC)特征吸收峰,利用公式(1),(2)计算镍处理藻样与对照藻样的藻胆蛋白相对含量^[11]。

$$PC = \frac{A_{620} - 0.195A_{438} - 0.587(A_{653} - 0.157A_{438})}{4.741 E_{653}^{PC}}, \quad (1)$$

$$APC = \frac{A_{65} - 0.157A_{438} - 0.188(A_{620} - 0.195A_{438})}{1.516 E_{620}^{APC}}. \quad (2)$$

$$PC \text{ 相对含量} = \frac{\text{处理样品}_{PC}}{\text{对照样品}_{PC}}, \quad (3)$$

$$APC \text{ 相对含量} = \frac{\text{处理样品}_{APC}}{\text{对照样品}_{APC}}. \quad (4)$$

式中, PC 和 APC 分别表示 PC 和 APC 的质量浓度。A₆₂₀, A₄₃₈ 和 A₆₅₃ 分别表示上述藻胆蛋白提取液在 620, 438 和 653 nm 的吸光值。E₆₅₃^{PC} 表示 PC 在 653 nm 处的吸光系数。E₆₂₀^{APC} 表示 APC 在 620 nm 处的吸光系数。E₆₅₃^{PC}, E₆₂₀^{APC} 可通过求相对含量消去,以不加 Ni 的为对照样品。

2 结果与讨论

2.1 Ni 对铜绿微囊藻生长的影响 根据实验结果,不同浓度的 Ni 元素对铜绿微囊藻生长的影响不同(图 1)。低质量浓度(0.10 μg/mL)的 Ni 元素对藻细胞生长反而有促进作用,Ni 元素质量浓度较高时,才会对藻细胞生长产生抑制作用。其中,1.00 μg/mL Ni 对藻细胞生长抑制作用最明显,其次为 0.40

μg/mL。这一结果与通常认为的随着处理浓度升高藻细胞生长受到的抑制越明显这一结论有较大出入,具体原因还待进一步研究。由图 1 还可以看出,在本实验培养条件下不同浓度 Ni 元素处理下的藻细胞进入指数生长阶段的时间均在第 5 天,说明 Ni 元素对铜绿微囊藻生长周期的影响不大。

2.2 Ni 对铜绿微囊藻藻细胞吸收光谱的影响

铜绿微囊藻藻细胞对对照(A)的吸收光谱出现了 3 个吸收峰,分别位于 438, 616 和 673 nm。438 nm 为叶绿素 a 的吸收峰,616 nm 为藻蓝蛋白的吸收峰,673 nm 为别藻蓝蛋白和叶绿素 a 在红光区的吸收峰。他人的研究表明,螺旋藻叶绿素 a 在蓝光区的峰值均为 440 nm^[8,10,11];藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白及叶绿素 a 在红光区的吸收峰值,极大螺旋藻的分别为 622 和 683 nm^[5,10],钝顶螺旋藻的分别为 622 和 680 nm^[8]。本研究所得结果均较小,可能是由于藻类品种不同。

Ni 元素处理使藻细胞的吸收光谱发生了变化。Ni 处理质量浓度为 0.10 μg/mL 的藻细胞(B)吸收峰位于 440, 627 和 679 nm,处理质量浓度为 0.30 μg/mL 的藻细胞(C)吸收峰位于 439, 624 和 678 nm,处理质量浓度为 0.40 μg/mL 的藻细胞(D)吸收峰位于 439, 618 和 678 nm,处理质量浓度为 0.50 μg/mL 的藻细胞(E)吸收峰位于 441, 618 和 678 nm,处理质量浓度为 1.00 μg/mL 的藻细胞(F)吸收峰位于 439, 617 和 677 nm,与对照 A 相比,峰位均发生了红移。说明 Ni 元素进入藻细胞使叶绿素和藻胆蛋白变性。

从图 2 可以看出,各处理浓度下藻细胞的吸光值也发生了变化。从藻细胞的整条吸收光谱来看,除 0.40 μg/mL 处理浓度下藻液的吸光值最低,其余各处理浓度下藻液的吸光值均随着处理浓度的增加而下降。说明 Ni 元素抑制了藻细胞的吸光能力。

2.3 Ni 对铜绿微囊藻藻胆蛋白吸收光谱的影响

从藻体中提取藻胆蛋白,测定其吸收光谱,发现 Ni 元素的处理同样影响了铜绿微囊藻藻胆蛋白的吸收光谱。在较低质量浓度 Ni 元素处理下(B, C),铜绿微囊藻藻胆蛋白的吸收峰值比对照高,而在较高浓度 Ni 元素处理下(E, F)其峰值低于对照(图 3)。说明,低浓度 Ni 可能诱导铜绿微囊藻藻胆蛋白的产生,高浓度的 Ni 则抑制其产生。在 Ni 的各个浓度处理中,0.40 μg/mL 的 Ni 处理浓度对藻胆蛋白的抑制作用最强。

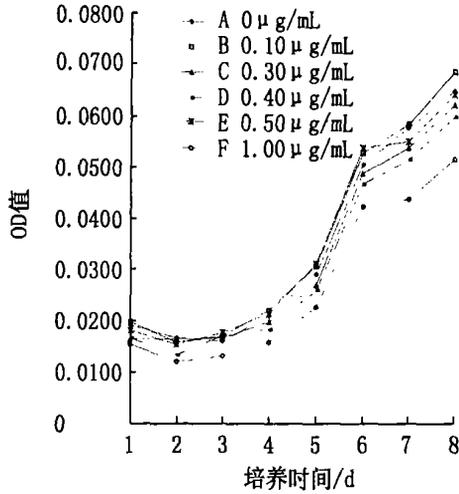


图 1 不同质量浓度 Ni 对铜绿微囊藻生长的影响
Fig.1 Effect of Ni on the growth of *Microcystis aeruginosa* under different concentrations

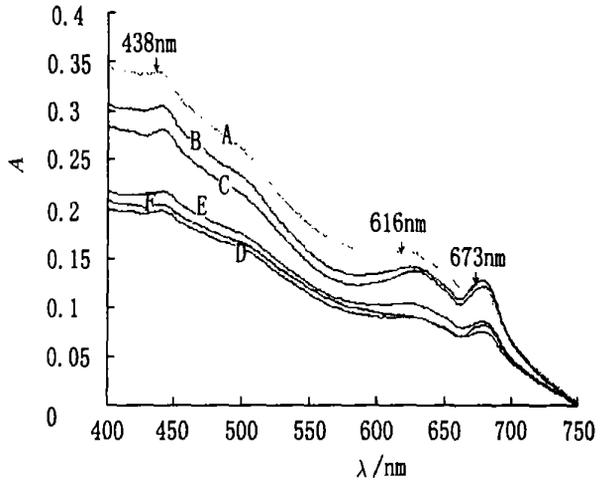


图 2 不同质量浓度 Ni 对铜绿微囊藻细胞吸收光谱的影响
Fig.2 Effect of Ni on the absorption spectrum of *Microcystis aeruginosa* under different concentrations

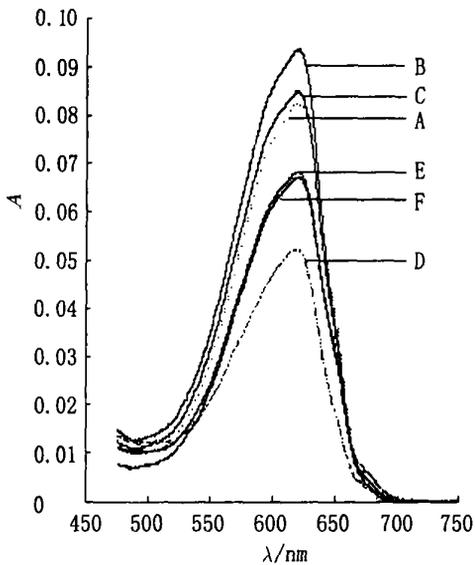


图 3 不同质量浓度 Ni 对铜绿微囊藻藻胆蛋白吸收光谱的影响
Fig.3 Effect of Ni on the absorption spectrum of phycobiliprotein of *Microcystis aeruginosa* under different concentrations

2.4 Ni 对铜绿微囊藻藻胆蛋白含量的影响 按照公式(1),(2)^[11]计算不同浓度 Ni 处理下铜绿微囊藻藻胆蛋白的相对含量(表 1)。结果表明,较低浓度 Ni 元素处理下(B,C),铜绿微囊藻 PC 的含量高于对照;较高浓度 Ni 元素处理下(E,F)铜绿微囊藻 PC 的含量低于对照;0.40 μg/mL 的 Ni 处理浓度下(D),PC 的相对含量最低。

APC 的情况则有所不同。凡是经过 Ni 处理的藻样,其 APC 含量均低于对照。

表 1 不同质量浓度 Ni 对铜绿微囊藻藻胆蛋白含量的影响

Tab.1 Effect of Ni on the content of phycobiliprotein of *Microcystis aeruginosa* under different concentrations

(Ni)/ (μg · mL ⁻¹)	相对含量	
	PC 藻蓝蛋白	APC 别藻蓝蛋白
0.0	1.000	1.000
0.1	1.190	0.601
0.3	1.074	0.762
0.4	0.671	0.162
0.5	0.833	0.790
1.0	0.831	0.815

由此可见,Ni 元素在低浓度下会使铜绿微囊藻的 PC 含量增加,高浓度下则使其减少;而 Ni 元素不论在高浓度还是低浓度下,均会使铜绿微囊藻的 APC 含量减少。

3 结 论

(1) Ni 元素对铜绿微囊藻的生长有影响。在低浓度下促进其生长,高浓度下抑制其生长;0.4 μg/mL 的 Ni 处理质量浓度对铜绿微囊藻的生长有特殊的抑制作用。

(2) 铜绿微囊藻细胞的可见光吸收峰位于 438 nm(叶绿素 a)、616 nm(藻蓝蛋白)和 673 nm

(别藻蓝蛋白及叶绿素 a)。

(3) Ni 元素对铜绿微囊藻藻细胞的吸收光谱有影响。具体表现为峰位红移、吸光值降低。说明 Ni 元素使叶绿素和藻胆蛋白变性,并抑制了藻细胞的吸光能力。

(4) Ni 元素对铜绿微囊藻藻胆蛋白的吸收光谱有影响。在较低浓度下使藻胆蛋白的吸收峰值升高,在较高浓度下则使其降低;0.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Ni 处理质量浓度对降低藻胆蛋白的吸收峰值有特殊作用。

(5) Ni 元素对铜绿微囊藻藻胆蛋白的含量有影响。Ni 元素在低浓度下会使铜绿微囊藻的 PC 含量增加,高浓度下则使其减少;而 Ni 元素不论在高浓度还是低浓度下,均会使铜绿微囊藻的 APC 含量减少。

参考文献:

- [1] 吴为梁. 滇池富营养化与藻类资源[J]. 云南环境科学, 2000, 19(1): 35—37.
- [2] 张梅, 李原, 王若南. 滇池浮游植物的生物多样性调查研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2005, 27(2): 170—175.
- [3] 杨继红, 杜远康, 彭莉, 等. 青海湖、滇池沿岸土样中某些重金属元素的含量和差异[J]. 城市环境与城市生态, 2003, 16(1): 70—72.
- [4] Robert MacColl. Cyanobacterial Phycobilisomes [J]. Journal of Structural Biology, 1998, 124: 311—334.
- [5] 李建宏, 邵子厚, 曾昭琪. Cu^{2+} 对蓝藻 *Spirulina maxima* 光合作用的抑制机理[J]. 植物生理学报, 1997, 23(1): 78—82.
- [6] 曾文炉, 丛威, 蔡昭铃, 等. 螺旋藻的营养方式及光合作用影响因素[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 70—77.
- [7] 李建宏, 曾昭琪. Co, Ni, Cu, Zn 离子对蓝藻藻胆体光谱影响研究[J]. 南京大学学报(自然科学), 1997, 33(4): 639—643.
- [8] 杜林方, 付华龙, 邹晓东. 铜离子对钝顶螺旋藻完整细胞中光系统活性和藻胆体能量传递的影响[J]. 植物学报, 1995, 37(2): 109—113.
- [9] 周长芳, 吴国荣, 陆长梅, 等. 铅污染对钝顶螺旋藻生长及某些生理性状的影响[J]. 湖泊科学, 1999, 11(2): 135—140.
- [10] 周志刚, 尹长松. 富硒极大螺旋藻整细胞、藻胆体及藻蓝蛋白的光谱特性[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 208—214.
- [11] 孙晓筠, 刘颖, 吴庆余. 叶绿素缺失和异养生长对蓝藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 藻胆蛋白含量的影响[J]. 植物学通报, 1998, 15(2): 58—62.

Effects of Ni on the growth, absorption spectrum and phycobiliprotein content of *Microcystis aeruginosa*

LIU Jie¹, CHANG Xue-xiu¹, HUANG Li-juan¹, MA Zhi-gang²

(1. Department of Ecology & Environment Science, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Department of Chemistry, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: The effects of Ni on the growth, absorption spectrum of intact cells and phycobiliprotein and content of phycobiliprotein of *Microcystis aeruginosa* was studied, in order to explore the influence of microelement on algal blooms. The results indicated that: (1) the growth of the algal cells was promoted under the low concentrations ($< 0.10 \mu\text{g}/\text{mL}$) of Ni but inhibited under the high concentrations ($0.30—1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$); (2) the absorption spectrum of intact cells moved and receded, it showed that the characters of chlorophyll and phycobiliprotein were changed and the light-harvesting capability of the cells was inhibited; (3) the low concentrations ($< 0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$) of Ni made higher peak of absorption spectrum of the phycobiliprotein, while the high concentrations ($0.401—1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$) made it lower; (4) the content of phycocyanin (PC) was increased under the low concentrations ($< 0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$) of Ni and reduced under the high concentrations ($0.40—1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$), while the content of allophycocyanin (APC) was reduced under any concentration of Ni treatment.

Key words: Ni; *Microcystis aeruginosa*; absorption spectrum; phycobiliprotein