

铜绿微囊藻中的紫外保护物质类菌孢素氨基酸 (MAAs) 与水华形成机制探讨*

刘正文^{1,2} 钟 萍² 韩博平²

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008; 2: 暨南大学水生生物研究中心, 广州 510632)

提 要 类菌孢素氨基酸 (mycosporine-like amino acids, 简称 MAAs) 存在于许多生物体内, 对紫外辐射 (UVR) 有较高的吸收能力, 被认为有保护细胞、减少 UVR 损伤的功能. 通过对从太湖分离、室内培养的铜绿微囊藻和以微囊藻为优势种类的太湖浮游植物样品的吸收光谱和反相高效液相色谱分析, 发现铜绿微囊藻和太湖浮游植物都含有 shinorine 和 porphyra-334 两种 MAAs, 但以 shinorine 为主. 本文还讨论了 MAAs 与铜绿微囊藻水华形成的关系.

关键词 铜绿微囊藻 类菌孢素氨基酸 水华 太湖

分类号 Q949.222⁺ X524

太阳辐射是植物光合作用的能源, 但太阳辐射太强会使植物的光合作用速率降低, 出现光抑制现象, 紫外辐射 (UVR) 过强还会对植物产生损伤^[1]. 在水体生态系统中, 由于吸收和散射作用, 太阳辐射 (包括 UVR) 随水深的增加逐步衰减, 因此水体表面太阳辐射最强, 常常使浮游植物产生光抑制^[2,3]. 不同种类的水生植物对太阳辐射的适应能力的不同, 所以太阳辐射是影响生物在不同水层分布的因子之一^[4,5].

类菌孢素氨基酸 (mycosporine-like amino acids, 简称 MAAs) 是氨基乙酸 (COOHNH-), 又称为甘氨酸, 但氨基乙酸上的氢均被环己烯的衍生物所取代. MAAs 存在于许多生物体内, 其吸收峰值在 310-360nm 之间, 因此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][6]}.

铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 是湖泊、河流等水体浮游植物中的常见种类, 可在富营养化水体表面形成水华, 包括温带、亚热带和热带, 甚至高原湖泊和水库^[7-10], 因此铜绿微囊藻对 UVR 可能有较高的适应能力. 本研究通过对室内培养的铜绿微囊藻和以铜绿微囊藻为优势种之一的太湖浮游植物进行分析, 确定该藻类是否含有 MAAs, 以探讨铜绿微囊藻水华形成机制.

1 材料与方 法

铜绿微囊藻是从太湖分离的, 培养在实验室, 光照由飞利浦日光灯提供, 辐照度为 12 W/m², 温度为 20 °C. 为测定以微囊藻为优势的太湖浮游植物的 MAAs, 2002 年 9 月采集太湖浮游

* 中国科学院知识创新重大项目 (KZCX1-SW-12-IV) 和江苏省自然科学基金 (BK2001193) 联合资助.
2003-05-07 收稿; 2003-07-03 收修改稿. 刘正文, 1963 年生, 博士, 研究员.

植物样品, 用 GF/C 滤膜过滤、冷冻干燥后保存.

吸收光谱分析 取 2.0mL 铜绿微囊藻藻液, 离心后 (10000 rpm, 10min), 倾去上清液, 收集沉淀物. 沉淀物加 25% 的甲醇, 在 45 °C 条件下反复萃取三次, 每次 2h (冷冻干燥后的浮游植物样品的萃取与铜绿微囊藻相同), 取上清液 (甲醇萃取液), 用 Beckman DU 70 型双波长双光束分光光度计 (Beckman, Palo Alto, 美国) 测定吸收度, 以 25% 的甲醇为空白对照, 比色皿光径 1cm, 扫描波长范围 260-700nm.

MAAs 分离与高效液相色谱 (HPLC) 分析 取 2ml 样品甲醇萃取液, 在 45 °C 条件下干燥, 然后再溶入 200 μ l 蒸馏水, 通过 0.2 μ m 孔径的滤膜过滤后进行反相高效液相色谱分析. 色谱柱 Hypersil C₁₈, 流动相为 25% 的甲醇加 0.2% 乙酸, 检测波长 250-450nm. 通过比较奥地利因斯布鲁克大学湖沼学系现存已知样品 (标准样) 吸收光谱和保留时间, 确定 MAAs 种类.

2 结果与讨论

图 1 是铜绿微囊藻甲醇萃取液吸收光谱图, 可以看出共有 5 个吸收峰, 即 $\lambda_{\max}=665\text{nm}$ (叶绿素 a); $\lambda_{\max}=618\text{nm}$ (藻蓝蛋白); $\lambda_{\max}=472\text{nm}$ (类胡萝卜素); $\lambda_{\max}=437\text{nm}$ (叶绿素 a); $\lambda_{\max}=334\text{nm}$ (类菌胞素氨基酸).

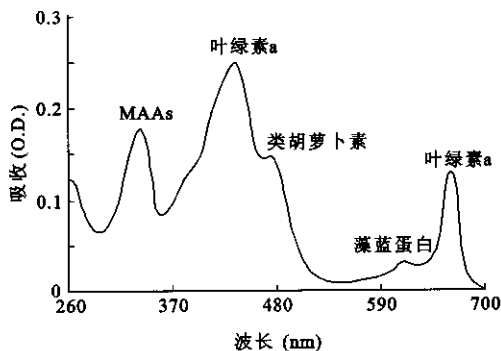


图 1 铜绿微囊藻甲醇萃取液吸收光谱图

Fig.1 Absorption spectrum of methanolic extract of *Microcystis aeruginosa*

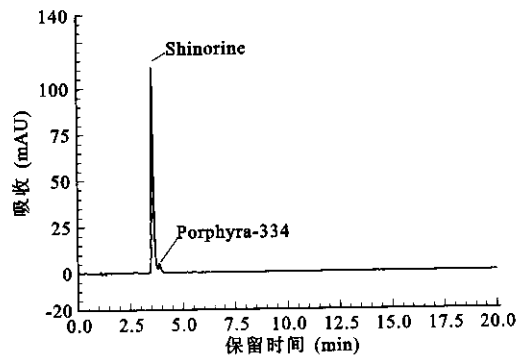


图 2 铜绿微囊藻 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of *Microcystis aeruginosa*

图 2 是 HPLC 分析色谱图, 图中存在吸收峰值为 334nm, 保留时间分别为 3.563min 和 3.885min 的两个峰. 通过与现存样品的比较, 两个峰为 MAAs, 即 shinorine 和 porphyra-334, 而前者的含量要大大高于后者.

图 3 是太湖浮游植物的 HPLC 色谱图, 通过与已知 MAAs 的紫外吸收和保留时间比较, 可以确定在太湖浮游植物样品中至少存在两种 MAAs, 即 shinorine 和 porphyra-334. 从图 3 看, 太湖浮游植物样品中可能还有其他未知 MAAs, 需进一步研究.

二十世纪七十年代以来, 人们分离出多种吸收峰值在紫外区的物质 MAAs. MAAs 是水溶性的, 至今人们已经确定了多种 MAAs 的结构特征, 包括 mycosporine-glycine, palythine, palythinol, asterina-330, porphyra-334 和 shinorine [1,9]. MAAs 除了能吸收紫外辐射

外, 有学者认为还有清除自由基的作用, 减少因紫外辐射产生的活性氧对生物体的影响^[10].

研究发现很多水生生物含有 MAAs, 尤其是生活在高山湖泊和南极海洋等紫外辐射 (UVR) 较高的环境中的种类^[11-13]. 在有些种类 MAAs 的合成与 UVR 辐照度有关, UVR 较低时, 细胞对 MAAs 的合成减少, 细胞中 MAAs 的含量与细胞接受的 UVR 辐照剂量成正相关: 生活在浅水区的种类 MAAs 含量高于深水区的种类, 如 *Acropora* spp.^[14]和 *Montastraea faveolata*^[15]; 表面水华形成种类有较高的 MAAs 含量, 如 *Phaeocystis pouchetii*^[16]和 *Heterocapsa triquetra*^[17]等.

该项研究首次证明, 从太湖分离的铜绿微囊藻在室内培养下, 含有吸收峰值为 334nm 的 MAAs, 通过与已知 MAAs 种类的 HPLC 分析结果比较得知, 铜绿微囊藻所含 MAAs 有 shinorine 和 porphyra-334 两种, 但以 shinorine 为主. 由此可见, 铜绿微囊藻在室内低光照、几乎无 UVR 的条件下, 同样合成 MAAs, 这与已报道的其他种类的 MAAs 合成有所不同. 如 Sinha 等^[18]报道鱼腥藻在只有光合有效辐射 (PAR) 条件下 MAAs 含量很低, 当辐射包括了 UVR 时, MAAs 的含量大大增加.

铜绿微囊藻分布于温带、亚热带和热带等不同 UVR 环境的水体中. 另外, 该种类常在富营养化水体中形成水华, 漂浮在水体表面, 直接暴露在很高的辐照度下 (包括 UVR)^[7-10, 19-21]. 因此, 铜绿微囊藻必须适应高辐照度环境. Pearl 等^[22]研究发现, 铜绿微囊藻可以利用波长较短的辐射进行光合作用, 而类胡萝卜素有助于铜绿微囊藻适应高辐照度, 从而有助于在水体表面形成水华. Neale 等^[11]研究发现 UVR 对 MAAs 含量较高的藻类光合作用的影响大大低于对含量低的藻类.

本项研究结果表明, 铜绿微囊藻有较高含量的紫外吸收物质 MAAs, 可能会降低 UVR 的损伤, 适应水体表面高辐照度, 因此可能是其形成水华的机制之一, 但需对 MAAs 含量与铜绿微囊藻光合作用的关系等开展进一步研究.

3 小结

从太湖分离的、在室内低光照条件下的铜绿微囊藻含有紫外吸收物质类菌胞素氨基酸 (Microsporine-like amino acids, MAAs), 种类包括 shinorine 和 porphyra-334. 从太湖采集的以微囊藻为优势种类的浮游植物有较高含量的 MAAs, 通过与现有标准样的比较, 可以确定 shinorine 和 porphyra-334 两种 MAAs. MAAs 的合成可能是微囊藻形成水华的机制之一, 但需进一步研究, 包括 MAAs 含量与铜绿微囊藻光合作用的关系等.

致谢 杨顶田协助野外采样, Ruben Sommaruga 协助样品分析, 并提供 MAAs 标准样, 研究期间得到了 Donat -P. Häder 的指导 and 帮助, 在此一并致谢!

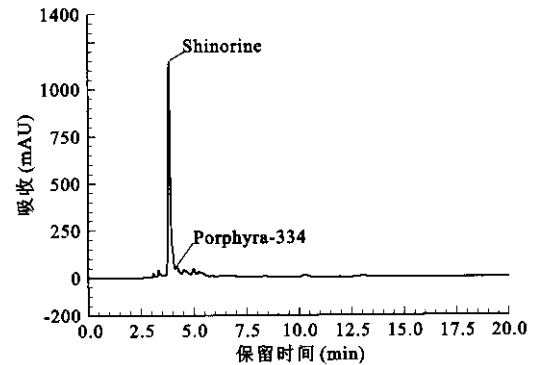


图 3 太湖浮游植物 HPLC 色谱图

Fig.3 HPLC chromatograms of the phytoplankton sample from Lake Taihu

参 考 文 献

- 1 Sinha R P, Klisch M, Gröniger A & Häder D-P. Responses of aquatic algae and cyanobacteria to solar UV-B. *Plant Ecol*, 2001, **154**: 221-236
- 2 Helbling E W, Villafan e V, Ferrario M & Holm-Hansen O. Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Mar Ecol Prog Ser*, 1992, **80**: 89-100
- 3 Kinzie R A III, Banaszak A T & Lesser M P. Effects of ultraviolet radiation on primary productivity in a high altitude tropical lake. *Hydrobiologia*, 1998, **385**: 23-32
- 4 Bischof K, D. Hanelt & C. Wiencke. UV-radiation can affect depth zonation of Antarctic macroalgae. *Ma Biol*, 1998, **131**: 597-605
- 5 Bischof K G, Kräbs D, Hanelt C Wiencke. Photosynthetic characteristics and mycosporine-like amino acids under UV radiation: a competitive advantage of *Mastocarpus tellatus* over *Chondrus crispus* at the Helgoland shoreline? *Helgol Mar Res*, 2000, **54**: 47-52
- 6 Banaszak A T. Photoprotective physiological and biochemical responses of aquatic organisms. In: Helbling E W & Zagarese H eds. UV effects in Aquatic Organisms and Ecosystems. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge, UK, 2002: 329-357
- 7 陈宇炜, 秦伯强, 高锡云. 太湖梅梁湾藻类及相关环境因子逐步回归统计和蓝藻水华的初步预测. 湖泊科学, 2001, **13** (1): 63-71
- 8 刘丽萍. 滇池水华特征及成因分析. 环境科学研究, 1999, **12** (5): 36-37
- 9 华锦彪, 宗志祥. 洋河水库水华发生的实验研究. 北京大学学报 (自然科学版), 1994, **30** (4): 476-484
- 10 Dunlap W C & Yamamoto Y. Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. *Comp Biochem Physiol*, 1995, **112**: 105-114
- 11 Neale P J, Banaszak A T, Jarriel C R. Ultraviolet sunscreens in *Gymnodinium sanguineum* (dinophyceae): mycosporine-like amino acids protect against inhibition of photosynthesis. *J Phycol*, 1998, **34**: 928-938
- 12 Karentz D, McEuen F S, Land M C, Dunlap W C, Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: Potential protection from ultraviolet exposure. *Mar Biol*, 1991, **108**: 157-166
- 13 Sommaruga, R. The role of solar UV radiation in the ecology of alpine lakes. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2001, **62**: 35-42
- 14 Dunlap, W. C., B. E. Chalker & J. K. Oliver. Bathymetric adaptations of reefbuilding corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1986, **104**: 239-248
- 15 Lesser M P. Depth-dependent photoacclimation to solar ultraviolet radiation in Caribbean coral *Montastraea faveolata*. *Mar Ecol Prog Ser*, 2000, **192**: 137-151
- 16 Marchant H J, Davidson A T, Kelly G J. UV-B protecting compounds in the marine alga *Phaeocystis pouchetii* from Antarctica. *Mar Biol*, 1991, **109**: 391-395
- 17 Wängberg S-A, Persson A & Karlson B. Effects of UV-B radiation on synthesis of mycosporine-like amino acid and growth in *Heterocapsa triquetra* (Dinophyceae). *J Photochem Photobiol B: Biol*, 1997, **37**: 141-146
- 18 Sinha R P, Klisch M, Helbling E W, Häder D -P, Induction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in cyanobacteria by solar ultraviolet-B radiation. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2001, **60**: 129-135
- 19 Ahn C -Y, Chung A -S & Oh H -M. Rainfall, phycocyanin, and N:P ratios related to cyanobacterial blooms in a Korean large reservoir. *Hydrobiologia*, 2002, **474**: 117-124
- 20 Huszar V L M, Silva L H S, Marinho M, Domingos P & Sant' Anna C L. Cyanoprokaryote assemblages in eight productivetropical Brazilian waters. *Hydrobiologia*, 2000, **424**: 67-77

21 Dokulil M T & Teubner K. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*, 2000, **438**: 1–12

22 Paerl H W, Bland P T, Dean Bowles N & Haibach M E. Adaptation to high-intensity, low-wavelength light among surface blooms of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *App Env Microbiol*, 1985, **49**: 1046–1052

UV Protective Compounds Mycosporine-like Amino Acids (MAAs) and Bloom Forming Mechanism in *Microcystis aeruginosa*

LIU Zhengwen^{1,2}, ZHONG Ping² & HAN Boping²

(1: Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P.R.China ;

2: Research Center of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 51063, P.R.China)

Abstract

Mycosporine-like amino acids (MAAs) strongly absorb UVR and protect cells against harmful UVR. Using spectroscopic and HPLC analysis, two MAAs were detected, i.e. shinorine and porphyrin-334, in the pure culture of *Microcystis aeruginosa* isolated from Lake Taihu and in the phytoplankton samples of Lake Taihu dominated by *Microcystis*. Synthesis of MAAs could be one of the adaptive strategies to high solar radiation including UVR and one of the bloom-forming mechanisms in *Microcystis aeruginosa*.

Keywords: *Microcystis aeruginosa*; Mycosporine-like amino acids; algal blooms

更正

《湖北牛山湖高体鳊的年龄、生长与繁殖》(湖泊科学, 2002, 14(3): 267-272)一文有一重要笔误, 即雄鱼与雌鱼的比例写反了, 文中是“1.59:1”, 正确的是“1:1.59”, 雌鱼多而雄鱼少. 文中3处涉及此错误, 具体如下:

- (1) 首页(267页)提要中的第二行“雄与雌的比例为1.59:1”;
- (2) 268页中, 倒数第9行“抽样的种群性比(雄:雌)为1.59:1”;
- (3) 272页中, 顺数12行“to females was 1.59:1”.