

简 报

重水对栅藻和卵形藻生长和光合的促进作用*

刘 枫 王文清

(北京大学技术物理系, 北京 100871)

施定基

(中国科学院植物研究所, 北京 100044)

罗上庚

(中国原子能科学研究院放射化学研究所, 北京 102413)

选择二种微藻分别在 30% 重水和普通水培养液中培养, 测定其生长、荧光动力学和低温荧光发射光谱的变化。生长数据结果表明, 卵形藻和斜生栅藻在重水中活性增加, 生长得到促进, 荧光动力学数据与生长数据一致。低温荧光发射光谱数据表明, 30% 重水抑制光系统 I 的活性比光系统 II 更为明显。

关键词 卵形藻 斜生栅藻 重水

中图分类号: Q 949. 2

重水对微藻生长的影响比较复杂, 早在 50 年代就已开始研究。Henry 等^[1]报道了小球藻在高浓度重水中生长缓慢, 而 Moses 等^[2]报道了微藻在超过 75% 的重水中不能生长, William 等^[3]用二种绿藻——小球藻和斜生栅藻系统地作了实验, 发现高浓度 D₂O 使藻类的指数生长期后延。本文从生长入手, 观测 D₂O 对微藻细胞生长的影响以及光系统 I 和光系统 II 的活性的变化, 筛选出能在氘(氘)水中存活, 并能促进生长的藻种。因为氘和氚具有相似的物理和化学性质, 为了避免氚水放射性沾污, 实验选择了氘水代替氚水进行试验。

1 实验部分

1.1 生物材料和藻的培养

斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)的培养液为 Knop 液, 为了观测重水的影响, 配制 30% 重水培养液, 培养箱温度为 27- 29℃, 摇床摇动速度为 120 r/min, 光照强度为 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 无氘水的对照实验同时进行。卵形藻(*Cocconeis* sp.), 按文献[4]的方法进行分离和纯化。

核工业科学基金资助项目

收稿日期: 1996-09-13 收到修改稿日期: 1997-06-05

刘枫: 男, 25 岁, 放射化学专业, 硕士

1.2 吸收光谱

用岛津 UV-3000 双光束双波长分光光度计在 750 nm 测定藻液光密度, 用光密度法测定藻细胞生长曲线。

1.3 低温荧光发射光谱

用日立 MPF-4500 型荧光分光光度计在液氮温度 (77K) 下测量, 微藻的激发波长为 436 nm。

1.4 叶绿素诱导荧光动力学

用德国 WALZ 公司出品的 PAM-100 叶绿素荧光光度计在室温下测量。

1.5 细胞计数法

用国产 XS2-D 型倒置生物显微镜在血球计数板上进行。

2 结果与讨论

2.1 重水对不同微藻生长的影响

栅藻在 30% 重水和普通水培养液中的生长曲线示于图 1。从图 1 可以看出, 两条曲线基本吻合。培养第六天, 重水中的与普通水中的斜生栅藻开始进入指数生长期, 其后重水中栅藻生长速度大于同期培养普通水栅藻中的生长速度, 第六天、第十天和第十三天两者相差的百分率分别为 1.4、77.9 和 86.1。在培养后期, 重水中栅藻生长速度变慢, 第十五天相差为 15.9。

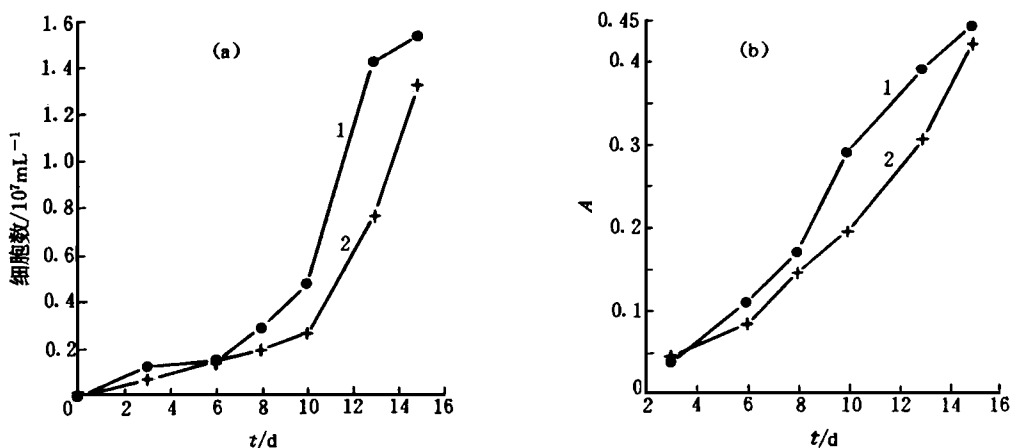


图 1 栅藻在 30% 重水和普通水培养液中生长曲线

Fig 1 The growth curves of scenedesmus algae cultured in 30% deuterated water and water

$\lambda = 750 \text{ nm}$, $t = (28 \pm 1) ^\circ\text{C}$, $n = 120 \text{ r/min}$, $I = 150 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$;

(a) — 细胞计数法, (b) — 分光光度法; 1 — D₂O, 2 — H₂O

卵形藻在 30% 重水中和普通水培养液生长曲线示于图 2。从图 2 可以看出, 重水中的卵形藻比普通水中的卵形藻受到了更强烈的促进作用, 第四天开始进入指数生长期, 其后重水中卵形藻的生长速度大于同期培养普通水中的生长速度, 第六天、第十天和第十三天两者相差的百分率分别为 11.0、70.8 和 76.0。

实验发现斜生栅藻和卵形藻在重水中活性增强, 生长速度加快, 同时测量这几种藻的荧光

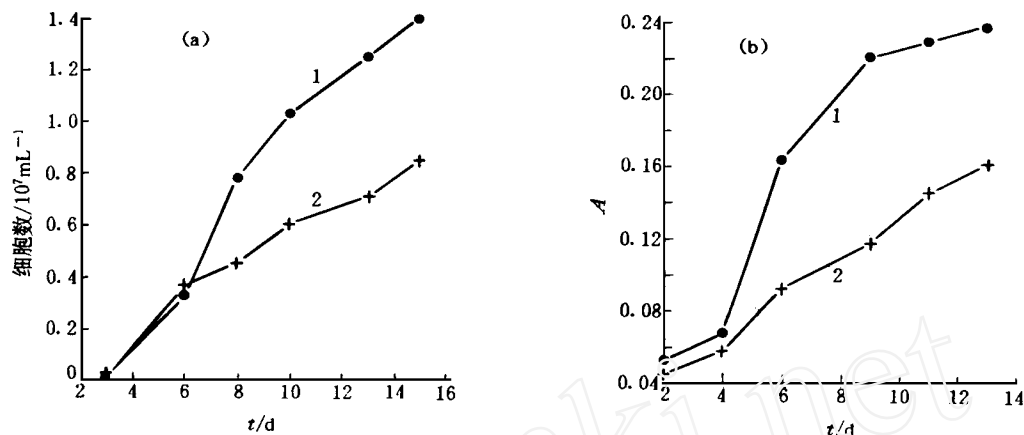


图 2 卵形藻在 30% 重水和普通水培养液中的生长曲线

Fig. 2 The growth curves of cocconeis algae cultured in 30% deuterated water and water

$\lambda = 750 \text{ nm}$, $t = (28 \pm 1)^\circ\text{C}$, $n = 120 \text{ r/min}$, $I = 150 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$;

(a) — 细胞计数法, (b) — 分光光度法; 1 — D₂O, 2 — H₂O

动力学发现这两种藻的光系统 II 活性明显高于普通水培养的对照藻种, 说明重水可能促进光合作用中光系统 II 的活性。William^[3]的实验结果是 85% - 99.6% 的重水抑制小球藻和栅藻的生长, 但 70% 的重水促进其生长, 机理不清楚。实验发现, 小球藻在 30% 重水中受到抑制, 与 William 结果不同; 栅藻在 30% 重水中促进了生长, 与 William 的结果是一致的。

2.2 叶绿素诱导荧光动力学

F_v/F_m 可表征光系统 II 的活性^[5], F_v 为光系统 II 反映中心活性的大小尺度, F_m 为 F_0 与 F_v 之和。 F_0 的相对值与藻体所含的叶绿素量有关。由图 3 可知荧光动力学分析的结果与生长

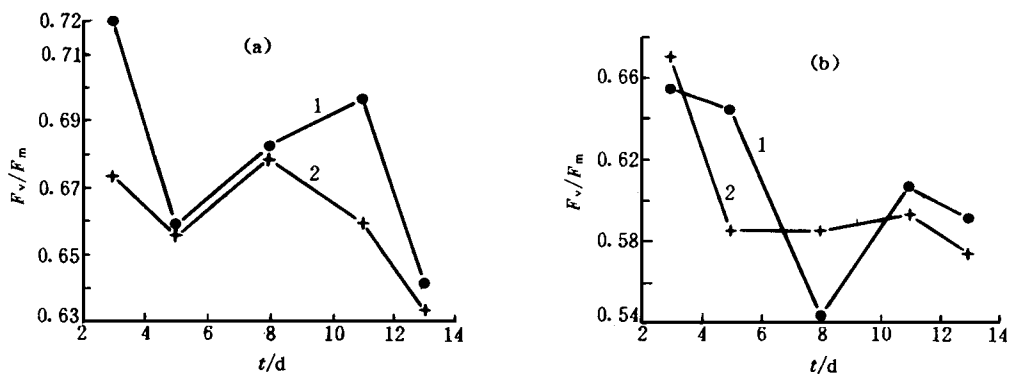


图 3 斜生栅藻和卵形藻在重水培养液中和普通水培养液中荧光动力学

Fig. 3 The fluorescence kinetics of photosystem II activities (F_v/F_m) scenedesmus algae and cocconeis algae cultured in 30% deuterated water and water

$F_m = F_v + F_0$, $t = (28 \pm 1)^\circ\text{C}$, $n = 120 \text{ r/min}$, $I = 150 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$;

(a) — 栅藻, (b) — 卵形藻; 1 — D₂O, 2 — H₂O

曲线基本上是一致的(图 3(b) 中第三个点异常, 我们尚不能给出合理的解释)。重水中培养的斜生栅藻和卵形藻可变荧光表征的光系统 II 的活性高于普通水培养的微藻。

2.3 低温荧光光谱

光合作用的低温(77K) 荧光光谱反映光合器官中叶绿素的状态并表明光合系统中光能的分配情况^[6]。在 77K 下, 光系统 I (PS I) 发射的荧光比光系统 II (PS II) 弱, 荧光高峰偏于长波长。叶绿素荧光发射光谱有三个带, 分别位于 685 nm, 700 nm 和 720 nm, PS I 的 720 nm 荧光强, 685 nm 和 700 nm 荧光很弱; 而 PS II 则相反, 685 nm 和 700 nm 荧光很强^[7]。由于 PS I 和 PS II 的荧光发射光谱有这样的显著差别, 因此可以用长波长(720 nm) 荧光强度与短波长(685 - 700 nm) 的荧光强度的比值作为鉴别 PS I 和 PS II 的指标。斜生栅藻和卵形藻在激发波长为 436 nm 时的低温荧光光谱数据列入表 1, 重水中培养的斜生栅藻与普通水中的斜生栅藻的低温荧光光谱都存在三个发射峰 686、698 和 717。686 来自光系统 II, 717 来自光系统 I, 按这两种荧光发射峰高(H) 的比值, 可看到光能分配上的异同, 重水中培养的栅藻 $H(717)/H(686)$, 三天跟踪测量结果分别为 1.07, 1.01 和 1.05, 而普通水分别为 1.14, 1.13 和 1.15。这说明在重水中培养, 其光系统 II 的活性增强, 光合系统中光能的分配趋向于光系统 I 的情况得到了改善, 两个光系统之间的分配更趋于均衡分配。与斜生栅藻不同的是重水中的与普通水中的卵形藻的低温荧光光谱存在两个发射峰 684 和 714。684 来自光系统 II, 714 来自光系统 I。重水中培养的卵形藻 $H(714)/H(684)$ 分别为 1.08, 0.96 和 0.69, 而普通水中的比值为 1.14, 1.21 和 1.13, 随着培养天数的增长, 重水中培养的 PS I /PS II 降低, 在重水中培养, 光能分配更趋于光系统 II, 而普通水中, 趋于光系统 I。

表 1 卵形藻、斜生栅藻低温培养下的荧光光谱

Table 1 Fluorescence spectra of scendeesmus algae and cocconeis algae at low temperature

	光系统 I /光系统 II					
	第四天		第六天		第十三天	
	D ₂ O	H ₂ O	D ₂ O	H ₂ O	D ₂ O	H ₂ O
斜生栅藻	1.07	1.14	1.01	1.13	1.05	1.15
卵形藻	1.08	1.14	0.96	1.21	0.69	1.13

注: 激发波长为 436 nm, T = 77K

3 结 论

斜生栅藻和卵形藻能够适应 30% 重水, 其生长得到促进, 荧光动力学研究表明, 这两种藻的光系统 II 的活性增强; 低温荧光光谱数据表明, 重水中的斜生栅藻, 其两个光系统更均衡分配, 而卵形藻的光能分配更趋于光系统 II, 其内部机理和应用需要进一步研究。

参 考 文 献

1 Henry LC, Sylvia MA, Joseph JK. Culture of A lgae Other M icro-organism s in Deuterium Oxide Nature, 1959, 184: 729—730

2 Moses V, Holm-hansen O, Calvin M. Response of Chlorella to a Deuterium Environment Biochim Bio-phys Acta, 1958, 28: 62- 70



- 3 William C, Norbert JS, Henry LC, et al The Growth of Algae in Deuterium Oxide *Biochim Biophys Acta*, 1960, 37: 280- 287
- 4 Rosmarie R. Methods Enzymol San Diego: Academic Press Inc 1988, Vol 167
- 5 Kitajima M, Butler WL. Quenching of Chlorophyll Fluorescence and Primary Photochemistry in Chloroplasts by Dibromothymoquinone *Biophys Acta*, 1975, 376: 105- 115
- 6 施定基, 吴鹏程, 仇媛媛, 等 苔藓植物光合作用荧光光谱和动力学荧光的比较. *植物学分类学报*, 1992, 30 (4): 320-330
- 7 Kok B, Rurainski HJ. Long-wave Absorption and Emission Bands in Chloroplast Fragments *Biochim Biophys Acta*, 1966, 126: 584- 587

GROWTH ACCELERATION AND PHOTOSYNTHESIS OF THE SCENEDESMUS ALGAE AND COCCONEIS ALGAE IN DEUTERIUM WATER

Liu Feng Wang Wenqing

(Department of Technical Physics, Peking University, Beijing 100871)

Shi Dingji

(Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100044)

Luo Shanggeng

(China Institute of Atomic Energy, Beijing 102413)

ABSTRACT

In order to find new way to treat the radioactive tritium wastewater, scenedesmus algae and cocconeis algae are cultured in medium which contains 30% (w) deuterium water. During different time, activities of photosynthesis, absorption spectrum, growth rate and low-temperature fluorescence spectrum are measured. Accelerated growth is found in the deuterium water compared to the normal water. Activities of photosynthesis show the similar result (F_v/F_m) to the growth data. It is also concluded from low-temperature fluorescence spectra that algae activities in the deuterium water, which are expressed by PS I/PS II, are more sensitive than those in the normal water.

Key words Scenedesmus algae Cocconeis algae Deuterium water