

青岛海产红藻 R-藻红蛋白光谱特性的比较研究*

潘忠正 周百成 曾呈奎

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

提要 本文对红毛菜纲 (Bangiophyceae) 和真红藻纲 (Florideophyceae) 的 30 种青岛海产红藻的 R-藻红蛋白进行了比较研究。所测定的吸收光谱表明, 这些红藻中的 R-藻红蛋白可区分成两种光谱类型, 即在可见光谱区有两个吸收峰的 I 型 R-藻红蛋白和有三个吸收峰的 II 型 R-藻红蛋白。红毛菜纲的 9 种低等红藻全是 I 型 R-藻红蛋白。在真红藻纲的高等红藻中有三种是 I 型 R-藻红蛋白, 其余 18 种都是 II 型 R-藻红蛋白。根据这两种 R-藻红蛋白在红藻中的分布, 可以看到从 I 型 R-藻红蛋白向 II 型 R-藻红蛋白进化的趋势, 但这种进化过程是比较复杂的, 并不存在一条以真红藻纲的海藻面目为截然的分界线。两种光谱类型的 R-藻红蛋白在红藻中的出现具有一定的分类学意义。

在红藻中有两种光谱类型的 R-藻红蛋白, 一种是在可见光谱区的 498 和 565nm 有吸收峰、在 540nm 有吸收肩的“双峰型” R-藻红蛋白, 另一种是在 498, 540 和 565nm 分别有吸收峰的“三峰型” R-藻红蛋白。我们把前者称为 I 型 R-藻红蛋白, 把后者称为 II 型 R-藻红蛋白。O'hEoch^[1] 根据对少部分藻类的藻胆蛋白研究认为, 红藻中不同类型的藻胆蛋白不具有分类学意义。而 Hirose^[2] 基于 56 种日本红藻粗提取物吸收光谱的类型及其在红藻中的分布, 认为红藻中的这两种光谱类型的藻红蛋白具有分类学意义。为了进一步确定这两种光谱类型的 R-藻红蛋白是否确实具有分类学意义, 我们对更多种红藻 (30 种青岛海产红藻) 的藻红蛋白进行了比较研究。在这些红藻中, 有不少种类的藻红蛋白的光谱特性还未见有报道。本文报道所取得的主要结果。

材料与方 法

实验共用 30 种海产底栖红藻, 其中原始红毛菜纲有 9 种, 真红藻纲有 21 种。所有红藻都采自青岛潮间带。除杂藻后用水冲洗, 然后浸泡于蒸馏水中提取藻胆蛋白。珊瑚藻科的种类需要在研钵中研磨和离心。某些不易提取的藻类, 提取藻胆蛋白尚需破碎细胞结构, 可在加砂或液氮的研钵中进行, 或重复进行冰冻与融化。通过研磨所得到的粗提物在过滤和离心后用于柱层析。用浸泡法制得的粗提物可直接用于柱层析。

藻胆蛋白柱层析的吸附剂是羟基磷灰石 (Hydroxylapatite)。羟基磷灰石的制备采用文献 [6] 所叙述的方法。为了加速洗脱过程, 加入了适量的硅藻土。吸收光谱在室温下

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告 1357 号。

中国科学院科学基金支持的课题。

收稿日期: 1986 年 5 月 5 日。

用岛津 UV-240 和日立-356型扫描式分光光度计测定。样品是用 pH6.7 的磷酸钾缓冲液制备的藻胆蛋白溶液。

结 果

30 种红藻的 R-藻红蛋白的吸收极大值示于表 1。显然, 根据表 1, 这些海产红藻的 R-藻红蛋白有两种光谱类型, 即有两个吸收峰的 I 型 R-藻红蛋白和有三个吸收峰的 II 型 R-藻红蛋白。红毛菜纲的 9 种红藻的 R-藻红蛋白全是 I 型。这些红藻是红毛菜目的红毛菜 (*Bangia fuscopurpurea*) 和 8 种紫菜。8 种紫菜分别是条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*)、华北半叶紫菜 (*P. katadai* var. *hemiphylla*)、少精紫菜 (*P. oligospermatangia*)、边紫菜 (*P. marginata*)、圆紫菜 (*P. suborbiculata*)、甘紫菜 (*P. tenera*) 和两种尚未确定种名的紫菜。另外, 真红藻纲海索面目的海索面 [*Nemalion helminthoides* (Valley) Batt. var. *vermiculare* (sur.) Tseng]、隐丝藻目的小珊瑚藻 (*Corallina pilulifera*) 和叉节藻 (*Amphiroa zonata*) 也含有 I 型 R-藻红蛋白。我们取华北半叶紫菜、红毛菜、海索面、小珊瑚藻和叉节藻的 R-藻红蛋白的吸收光谱作为 I 型 R-藻红蛋白的代表, 示于图 1。

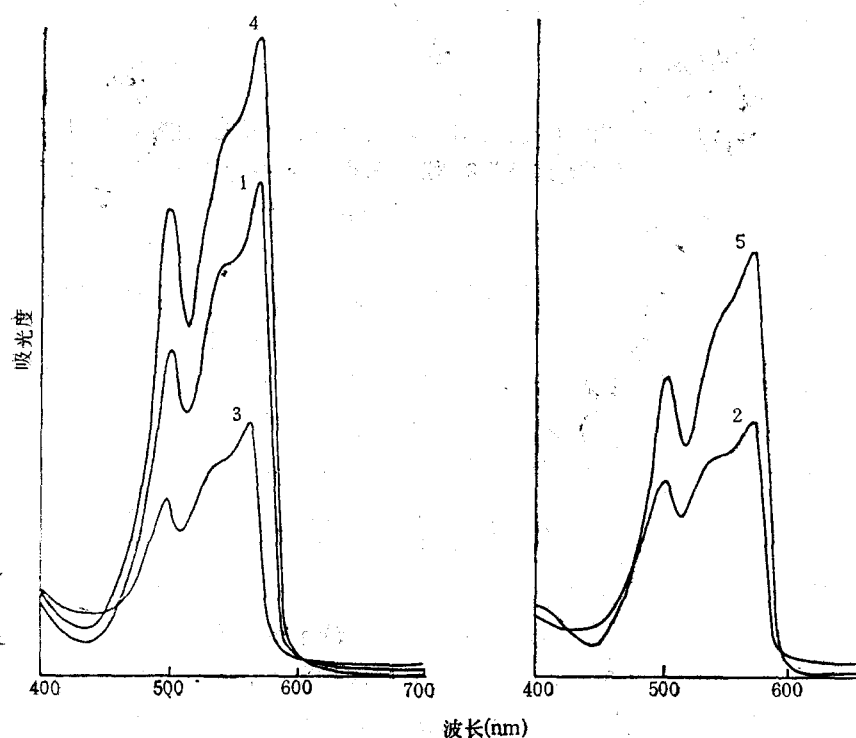


图 1 I 型 R-藻红蛋白的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of type I R-phycoerythrin (in potassium phosphate buffer, pH6.7)

1. 华北半叶紫菜 (*Porphyra katadai* var. *hemiphylla*); 2. 红毛菜 (*Bangia fuscopurpurea*);
3. 海索面 (*Nemalion helminthoides* (Valley) Batt. var. *vermiculare*); 4. 小珊瑚藻 (*Corallina pilulifera*); 5. 叉节藻 (*Amphiroa zonata*).

真红藻纲其余 18 种海产红藻的 R-藻红蛋白都是 II 型 R-藻红蛋白。这些海藻是石

表 1 海产底栖红藻 R-藻红蛋白的吸收极大值¹⁾

Tab. 1 The maximum values of absorption spectra of R-PE from the red seaweeds

藻的类群与种类	R-藻红蛋白类型	可见光区吸收极大值 (nm)
红毛菜纲 (Bangiophyceae)		
红毛菜目 (Bangiales)		
红毛菜科 (Bangiaceae)		
红毛菜 (<i>Bangia fuscopurpurea</i>)	I	498 (540) 565
条斑紫菜 (<i>Porphyra yezoensis</i>)	I	498 (540) 565
边紫菜 (<i>P. marginata</i>)	I	498 (540) 565
甘紫菜 (<i>P. tenera</i>)	I	498 (540) 565
圆紫菜 (<i>P. suborbiculata</i>)	I	498 (540) 565
少精紫菜 (<i>P. oligospermatangia</i>)	I	498 (540) 565
华北半叶紫菜 (<i>P. katadai</i> var. <i>hemiphylla</i>)	I	498 (540) 565
<i>Porphyra</i> sp.	I	498 (540) 565
<i>Porphyra</i> sp.	I	498 (540) 565
真红藻纲 (Florideophyceae)		
海索面目 (Nemalionales)		
海索面科 (Nemalionaceae)		
海索面 <i>Nemalion helminthoides</i> (Valley) Batt. var. <i>vermiculare</i> (sur.) Tseng	I	498 (540) 565
石花菜目 (Gelidiales)		
石花菜科 (Gelidiaceae)		
异型石花菜 (<i>Gelidium vagum</i>)	II	498 540 565
隐丝藻目 (Cryptonemiales)		
胶粘藻科 (Dumontiaceae)		
亮管藻 (<i>Hyalosiphonia caespitosa</i>)	II	498 540 565
珊瑚藻科 (Corallinaceae)		
小珊瑚藻 (<i>Corallina pilulifera</i>)	I	498 (540) 565
叉节藻 (<i>Amphiroa zonata</i>)	I	498 (540) 565
隐丝藻科 (Cryptonemiaceae)		
海膜 (<i>Halymenia sinensis</i>)	II	498 540 565
蜈蚣藻 (<i>Grateloupia filicina</i>)	II	498 540 565
胭脂藻科 (Hildenbrandiaceae)		
胭脂藻 (<i>Hildenbrandia rivularis</i>)	II	498 540 565
杉藻目 (Gigartinales)		
滑线藻科 (Nemastomaceae)		
滑枝藻 (<i>Tsengia nakamurae</i>)	II	498 540 565
海头红科 (Plocamiaceae)		
海头红 (<i>Plocamium telfairiae</i>)	II	498 540 565
江蓠科 (Gracilariaceae)		
江蓠 (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	II	498 540 565
龙须菜 (<i>G. sjostedtii</i>)	II	498 540 565
杉藻科 (Gigartinaceae)		
角叉菜 (<i>Condrus</i> sp.)	II	498 540 565
红皮藻目 (Rhodymeniales)		
红皮藻科 (Rhodymeniaceae)		

1) 在 pH 6.7 的磷酸钾缓冲液中(图 1, 2 同), 括号内均为吸收肩。

续表 1

藻的种类与种类	R-藻红蛋白类型	可见光区吸收 极大值 (nm)
金膜藻 (<i>Chrysomenia wrightii</i>)	II	498 540 565
仙菜目 (Ceramiales)		
仙菜科 (Ceramiales)		
对丝藻 (<i>Antithamnion cruciatum</i>)	II	498 540 565
三叉仙菜 (<i>Ceramium Kondoii</i>)	II	498 540 565
红叶藻科 (Delesseriaceae)		
碎叶藻 (<i>Acrosorium yendoii</i>)	II	498 540 565
红叶藻 (<i>Brythroglossum</i> sp.)	II	498 540 565
绒线藻科 (Dasyaceae)		
日本异管藻 (<i>Heterosiphonia japonica</i>)	II	498 540 565
松节藻科 (Rhodomelaceae)		
多管藻 (<i>Polysiphonia urceolata</i>)	II	498 540 565
异枝凹顶藻 (<i>Laurencia intermedia</i>)	II	498 540 565

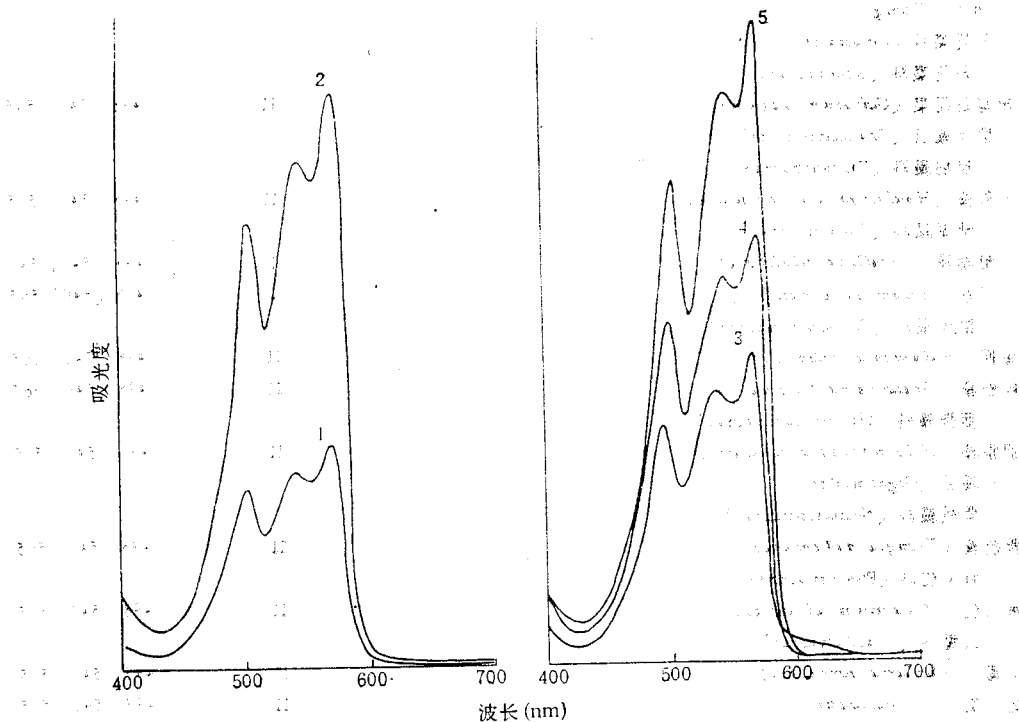


图 2 II 型 R-藻红蛋白的吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectra of type II R-phycoerythrin (in potassium phosphate buffer, pH 6.7)

1. 异形石花菜 (*Gelidium vagum*); 2. 亮管藻 (*Hyalosiphonia caespitosa*); 3. 角叉菜 (*Condria* sp.); 4. 金膜藻 (*Chrysomenia wrightii*); 5. 日本异管藻 (*Heterosiphonia japonica*).

花菜目的异型石花菜 (*Gelidium vagum*)、隐丝藻目的亮管藻 (*Hyalosiphonia caespitosa*)、海膜 (*Halymenia sinensis*)、蜈蚣藻 (*Grateloupia filicina*)、胭脂藻 (*Hildenbrandia rivularis*)、杉藻目的滑枝藻 (*Tsengia nakamurae*)、海头红 (*Placantium telfairiae*)、江蓠 (*Gracilaria verrucosa*)、龙须菜 (*G. sjostedtii*)、角叉菜 (*Chondrus* sp.)、红皮藻目的金膜藻 (*Chrysomena wrighii*)、仙菜目的对丝藻 (*Antithamnion cruxiatum*)、三叉仙菜 (*Ceramium kondoi*)、碎叶藻 (*Acrosorium yendoii*)、红叶藻 (*Erythroglottis* sp.)、日本异管藻 (*Heterosiphonia japonica*) 和异枝凹顶藻 (*Laurencia intermedia*)。这些红藻分别属于 5 个目的 14 个科(表 1)。每个目中取一种藻的 II 型 R-藻红蛋白的吸收光谱示于图 2。这 5 种海藻分别是石花菜目的异型石花菜、隐丝藻目的亮管藻、杉藻目的角叉菜、红皮藻目的金膜藻和仙菜目的日本异管藻。多管藻和三叉仙菜中的 R-藻红蛋白的吸收光谱将另文报道。

讨 论

从青岛海产底栖红藻的研究结果可以清楚地看出, 原始红毛菜纲的 9 种低等红藻全部是 I 型 R-藻红蛋白。此外, 作者采自福建的另一种紫菜——坛紫菜 (*P. haitanensis*) 也是 I 型 R-藻红蛋白。我们测定的这些结果同 Hirose 和其他一些学者所报道的完全相同^[1-4]。这说明, 在 R-藻红蛋白这种光合作用捕光色素的进化过程中, I 型 R-藻红蛋白先出现, 以后逐渐演变到 II 型 R-藻红蛋白。原始红毛菜纲中的红藻的进化地位介于蓝藻和真红藻纲的高等红藻之间, 它们普遍含有 I 型 R-藻红蛋白是表明其原始性的一种特征。Hirose^[3] 根据对 56 种日本红藻藻胆蛋白粗提取物的吸收光谱的研究, 观察到 IV 型藻红蛋白(即 I 型 R-藻红蛋白)和 V 型藻红蛋白(即 II 型 R-藻红蛋白)均出现于海索面目, 且前者出现于较低等的三个科 (Auduinellaceae, Batrachospermaceae 和 Thoreaceae) 的 9 种红藻中, 后者存在于较高等的三个科 (Helminthocladiaceae, Bonnemaisoniaceae 和 Chaetangiaceae) 的 6 种红藻中; 在海索面目以上的目中没有发现 IV 型藻红蛋白; 因此, 他认为从 IV 型藻红蛋白向 V 型藻红蛋白进化的分界线就是在真红藻纲的海索面目。然而, 根据我们的测定结果, 情况并非完全如此。

首先, 我们从海索面 (*Nemalion helminthoides* (Valley) Batt. var. *vermiculare* (sur.) Tseng) 中分离纯化的 R-藻红蛋白属 I 型 R-藻红蛋白; 而 Hirose 从 *Nemalion vermiculare* 的粗提物测定的藻红蛋白是 V 型, 即 II 型 R-藻红蛋白; 实际上, *Nemalion vermiculare* 就是 *Nemalion helminthoides* (Valley) Batt. var. *vermiculare* (sur.) Tseng, 即海索面。这样, 从同一种红藻中报道了两种不同光谱类型的藻红蛋白。原因何在? 我们认为, 其一, 由粗提物(一种混合物)特别是含有大量藻胶的粗提物测定的吸收光谱有时难于识别, 易于导致不正确的判断, 因此, 要获取准确无误的光谱应采用纯化过的样品。其二, 海索面属于蜈蚣藻科, 这说明海索面目中较高等的科中的某些红藻仍含有 I 型 R-藻红蛋白, 并非所有红藻都是 II 型 R-藻红蛋白。其次, 我们测定的隐丝藻目的小珊瑚藻 (*Corallina pilulifera*) 和叉节藻 (*Amphiroa zonata*) 也含有 I 型 R-藻红蛋白(图 1 和表 1); 本文第二和第三作者在加拿大工作期间, 发现隐丝藻目的 *Polyide rotundus* 和 *Dumontia incrassata* 以及红皮藻目的 *Halosaccion ramentaceum* 也都会有 I 型 R-藻红蛋白; Svedberg 和 Eri-

kson^[7] 还报道过在石花菜目中有 I 型 R-藻红蛋白的存在。这些结果说明,在真红藻纲的高等红藻中, I 型 R-藻红蛋白除分布于比较原始的海索面目外,还出现于隐丝藻目、红皮藻目和石花菜目中。在杉藻目和仙菜目中尚未发现 I 型 R-藻红蛋白。

根据两种光谱类型的 R-藻红蛋白在红藻中的分布, 我们认为 I 型 R-藻红蛋白较为原始, II 型 R-藻红蛋白较为进化, 且同时存在着一种从 I 型向 II 型进化的趋势; 但这一进化过程是复杂的, 并非以真红藻纲的海索面目为截然分界线, 而且藻红蛋白吸收光谱的类型也并不与基于比较形态学的现代分类系统完全一致。尽管如此, 就整体而论, 我们仍然认为在红藻中藻红蛋白吸收光谱的类型是具有一定的分类学意义。但要完全阐明这一进化过程, 目前现有的资料还是不充分的, 仍需要从各方面进行研究。其中一个重要内容就是对大量红藻中的藻红蛋白进行分离与纯化, 并测定其吸收光谱。当然, 这会有相当大的工作量, 且有时藻胆蛋白的分离和纯化是相当困难的。近来, Tararica 和 Kosovel^[8] 利用计算机拟合法已成功地从江蓠 (*Gracilaria verrucosa*) 的藻胆蛋白粗提物中识别出了各个组分。我们认为, 随着分离与纯化藻胆蛋白技术的改进和其它新技术的应用, 这些困难将会被克服, 从而为进一步阐明红藻中 R-藻红蛋白的进化过程提供更多的资料。

参 考 文 献

- [1] Fujiwara, T., 1955. Studies on chromoproteins in Japanese Nori (*Porphyra tenera*) I. A new method for the crystallization of phycoerythrin and phycocyanin. *J. Biochem.* 42: 411—417.
- [2] Haxo, F. T., C. O'hEoch and P. Norris, 1955. Comparative studies of chromatographically separated phycoerythrin and phycocyanin. *Arch. Biochem.* 54: 162—173.
- [3] Hirose, H., 1975. Photoreactive pigments of algae and algal phylogeny. In *Advance of Phycology in Japan*. VEB Gustav Fisher Verlag Jana. pp. 52—65.
- [4] O'Carra, P., 1965. Purification and N-terminal analysis of algal biliproteins. *J. Biochem.* 94: 171—174.
- [5] O'hEoch, C., 1962. Phycobilin. In: *Physiology and Biochemistry of Algae*. Academic Press, New York and London, pp. 421—436.
- [6] Siegelman, H. W. and J. H. Kycia, 1978. Algal bliproteins. In: *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press, pp. 72—79.
- [7] Svedberg, T. and I. Erikson, 1932. *J. Amer. Chem. Soc.* 54: 3998.
- [8] Tararica, T. and V. Kosovel, 1982. Spectral analysis of biliproteins from *Gracilaria verrucosa* (Huds). *Photosynthetica* 16(2): 184—190.

COMPARATIVE STUDIES ON SPECTRAL PROPERTIES OF R-PHYCOERYTHRIN FROM THE RED SEAWEEDS*

Pan Zhongzheng, Zhou Baicheng and Zeng Chengkui (C. K. Tseng)

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao*)

ABSTRACT

The present paper made comparative studies of R-phycoerythrin (R-PE) from 30 species of the red seaweeds (Bangiophyceae and Florideophyceae). The measured absorption spectra show that R-PE from these red seaweeds have two spectral types, type I R-PE with two absorption peaks and type II R-PE with three absorption peaks. Nine species of a lower red seaweeds (Bangiophyceae) are of the type I R-PE, 3 species of a higher red seaweeds (Florideophyceae) are also of the type I R-PE, the remaining 18 species are of the type II R-PE. According to the distribution of two types of R-PE in red algae, an evolution from type I R-PE to type II R-PE can be observed, but this evolution process is more complicated and Nemalionales of Florideophyceae can not be considered as a definite line of demarcation. The occurrence of two types of R-PE in red algae is of taxonomic significance.

* Contribution No. 1357 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.