

邓祥元, 成 婕, 周伟华, 等. UV-B 辐射对聚球藻 7942 生长及生理特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 281-283.

UV-B 辐射对聚球藻 7942 生长及生理特性的影响

邓祥元^{1,2,3}, 成 婕¹, 周伟华², 黄雪敏¹

(1. 江苏科技大学生物与化学工程学院, 江苏镇江 212018; 2. 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广东广州 510301;

3. 南京农业大学江苏省海洋生物学重点实验室, 江苏南京 210095)

摘要:为了研究紫外辐射对微藻生长及生理特性的影响,以聚球藻 7942 (*Synechococcus* sp. PCC 7942) 为材料,分析 UV-B 对其生长及生理特性的影响。结果表明:中高强度的 UV-B 辐射 ($>5.5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) 严重抑制聚球藻的生长;聚球藻中叶绿素 a 及可溶性蛋白质含量随 UV-B 辐射强度及时间的增加而降低;随着 UV-B 辐射强度及时间的增加,藻细胞中超氧化物歧化酶(SOD)活性先升高后降低,而丙二醛(MDA)含量逐渐增加。表明 UV-B 辐射可损伤藻细胞内的色素、蛋白质等大分子物质或抑制其合成,从而抑制聚球藻的生长。藻细胞中活性氧自由基(ROS)的平衡逐渐被打破,ROS 开始过量积累,使细胞遭受严重损伤。

关键词:UV-B 辐射;聚球藻;生长;生理特性

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)05-0281-03

由臭氧层被严重破坏所导致的紫外辐射增强已成为全球性的三大环境问题之一^[1],其中 UV-B 辐射(280~315 nm)虽然仅占有到达地球表面电磁光谱的很小一部分,但由于它具有高能量,可显著影响生物的形态、光合作用、生物量和有机物含量等^[2-3]。藻类作为海洋和内陆水域中重要的初级生产者,在整个生态系统中有着举足轻重的地位,微藻具有生长迅速、繁殖能力强、适应性广、对环境变化敏感等特点,逐渐成为评价环境变化的生物模型^[4]。本试验以聚球藻 7942 (*Synechococcus* sp. PCC 7942) 为材料,研究 UV-B 辐射对其生长及生理生化特性的影响,探讨聚球藻对 UV-B 辐射可能的响应机制,为分析微藻对紫外辐射的生理生化响应机制提

供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

聚球藻 7942 (*Synechococcus* sp. PCC 7942)由中国水产科学研究院黄海水产研究所张晓雯教授馈赠。

在无菌条件下,将藻种转接到 BG-11 培养基^[5]中。培养条件为:温度 25℃,光照度 3 000 lx,光周期为 12 h-12 h(静置培养,每天定时人工摇动 3 次)。所用试剂均为上海国药集团化学试剂有限公司生产的分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 藻种的活化、培养 用作生物测试的藻必须是处于对数生长期并且是同步化生长的细胞,因此在正式试验之前,首先要对藻类进行同步化培养^[6]。将聚球藻 7942 在无菌条件下转移至 BG-11 培养基中,于光照培养箱中驯化培养 7 d,至对数生长期,将对数生长期的藻种接种到培养皿中进行 UV-B 辐射处理,接种密度为 3×10^7 个/mL,体积为 500 mL。

1.2.2 UV-B 辐射处理 采用南京华强电子有限公司生产

收稿日期:2013-09-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31370500);中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室开放课题(编号:LMB121003);江苏省博士后科研资助计划项目(编号:1201063C)

作者简介:邓祥元(1982—),男,博士,副教授,研究方向为藻类环境生物学。E-mail: dengxy2009@126.com。

通信作者:周伟华。E-mail: whzhou@scsio.ac.cn。

[4] 李红梅,马友鑫,郭宗峰,等. 基于 RS 和 GIS 的西双版纳土地覆被动态变化[J]. 山地学报,2007,25(3):280-289.

[5] 赵元藩,温庆忠,陶 晶,等. 西双版纳热带天然森林生态服务功能价值评估[J]. 林业调查规划,2010,35(1):1-6.

[6] 唐建维,张建候,宋启示,等. 西双版纳热带人工雨林生物量及净第一性生产力的研究[J]. 应用生态学报,2003,14(1):1-6.

[7] 伍 卫,罗华向,李 明,等. 东风农场橡胶树的营养状况与施肥[J]. 云南热作科技,2001,24(3):14-17.

[8] 夏体渊,吴家勇,段昌群,等. 西双版纳橡胶林生态经济价值初探[J]. 华东师范大学学报:自然科学版,2009(2):21-28.

[9] 丁圣彦. 生态学[M]. 北京:科学出版社,2004.

[10] 刘 隆. 西双版纳的毁林开荒是可以制止的——对西双版纳的再调查[J]. 经济理论与经济管理,1983,3(1):74-78.

[11] 戴 波. 经济发展与生态保护的思考——橡胶种植与热带雨林[J]. 生态经济,2008(8):92-95.

[12] 张墨谦,周可新,薛达元. 种植橡胶林对西双版纳热带雨林的影晌及影响的消除[J]. 生态经济:学术版,2007(2):377-378,439.

[13] 张一平,王 馨,王玉杰,等. 西双版纳地区热带季节雨林与橡胶林林冠水文效应比较研究[J]. 生态学报,2003,23(12):2653-2665.

[14] 周 宗,胡绍云. 橡胶产业对西双版纳生态环境影响初探[J]. 环境科学导刊,2008,27(3):73-75.

[15] 张友彬,施济普. 西双版纳砂仁种植模式探讨[J]. 热带农业科技,2005,28(3):14-17,23.

[16] 吴兆录,杨正彬. 西双版纳橡胶种植的正负影响和改进途径[J]. 曲靖师范学院学报,2001,20(6):64-69.

[17] 刘桂芳,田广增,卢鹤立,等. 黄河中下游丘陵-平原过渡区乡镇土地利用相对可持续性评价[J]. 河南大学学报:自然科学版,2012,42(2):159-166.

的紫外 B 灯作为光源,以北京师范大学生产的 UV-B 型紫外辐射强度仪测定辐射强度,通过调整培养皿和紫外 B 灯间的距离调节辐射强度。在预实验的基础上,设计 3 种辐射强度,分别为:低 UV-B 辐射强度组(Luv), $2.8 \mu\text{W}/\text{cm}^2$;中 UV-B 辐射强度组(Muv), $5.5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$,高 UV-B 辐射强度组(Huv), $6.2 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。以正常日光灯管照射作为对照组(CK),照射时间为 4 h。

1.2.3 细胞密度的测定 参照 Deng 等的方法^[7]测定细胞密度。

1.2.4 叶绿素 a 含量的测定 取 5 mL 藻液, $5\,000 \text{ r}/\text{min}$ 下离心 10 min,收集藻细胞,转移到 10 mL 试管中,加入 5 mL 80% 的丙酮,在 4°C 冰箱中避光抽提 24 h 后,充分混匀,以 $6\,000 \text{ r}/\text{min}$ 离心 15 min,取上清液;以 80% 丙酮为参比,于分光光度计中测定 663、645 nm 波长下提取液的吸光值。叶绿素 a 含量(Chl a)的计算公式^[8]为:

$$\text{Chl a} = 12.71D_{663} - 2.59D_{645}$$

1.2.5 蛋白质含量、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)含量的测定 取 20 mL 藻液, $5\,000 \text{ r}/\text{min}$ 下离心 10 min,收集藻细胞,加入 0.05 mol/L 的磷酸缓冲液 1 mL (pH 值为 7.8),利用超声波细胞破碎仪冰浴破碎细胞 10 min (其间工作 5 s,间隙 20 s),镜检无完整细胞后于 $12\,000 \text{ r}/\text{min}$ 离心下 10 min,上清液即为粗酶液。蛋白质含量、SOD 活性和 MDA 含量的测定参照南京建成生物工程研究所的蛋白质含量测定试剂盒(货号:A045-2)、SOD 试剂盒(货号:A001-1)和 MDA 试剂盒(货号:A003-1)说明书进行。

2 结果与分析

2.1 UV-B 辐射对聚球藻生长的影响

由图 1 可知,UV-B 辐射 1 h,处理组与对照组中聚球藻的生长未表现出显著差异($P > 0.05$),但随着处理时间的延长(2~4 h),处理组中聚球藻的生长开始受到抑制,且随处理时间的延长和辐射强度的加大,抑制作用越明显。如 UV-B 辐射 4 h 后,在 Luv、Muv 和 Huv 处理组中,聚球藻的细胞密度仅为对照组的 92.01%、67.78% 和 48.97%,表明中高强度的 UV-B 辐射($\geq 5.5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$)严重抑制聚球藻的生长,这与刘晓娟等的研究结果^[9]基本一致。

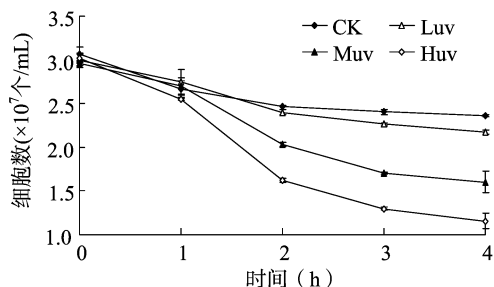


图1 UV-B辐射对聚球藻生长的影响

2.2 UV-B 辐射对聚球藻叶绿素 a 含量的影响

叶绿素是光合作用的主要色素,叶绿素的破坏或降解会直接导致光合作用效率的降低,因此藻体内叶绿素含量的变化直接影响其生长状态,UV-B 辐射对聚球藻中叶绿素 a 含量的影响如图 2 所示。由图 2 可知,与对照组(CK)相比,Luv

处理组对聚球藻叶绿素 a 含量的影响不明显($P > 0.05$),但 Muv 和 Huv 处理叶绿素 a 含量随处理时间的延长逐渐降低,表明中高强度的 UV-B 辐射可使叶绿素 a 分子受损或其合成代谢受到抑制。

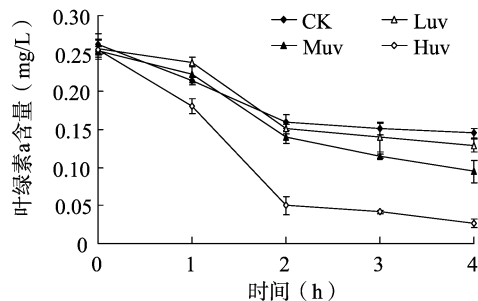


图2 UV-B辐射对聚球藻中叶绿素a含量的影响

2.3 UV-B 辐射对聚球藻蛋白质含量的影响

作为生物体构成的主要物质,蛋白质是生命功能的执行者,在生物体中具有重要作用。图 3 显示了 UV-B 辐射对聚球藻可溶性蛋白含量的影响,由图 3 可知,随着 UV-B 辐射时间的延长,处理组中聚球藻蛋白含量迅速降低;同时随着 UV-B 辐射强度的增加,聚球藻中蛋白质含量下降。UV-B 辐射 4 h 后,Luv、Muv 及 Huv 处理组中,可溶性蛋白质含量仅为对照组的 55.74%、38.50% 和 16.75%。

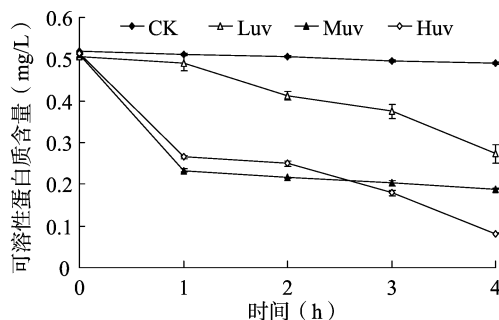


图3 UV-B辐射对聚球藻蛋白质含量的影响

2.4 聚球藻中 SOD 活性对 UV-B 辐射的响应

SOD 是生物体内重要的活性氧防护酶,与生物体内过氧化物酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽酶等组成了防御过氧化系统,催化生物细胞中的氧自由基发生歧化反应,生成过氧化氢,再由过氧化氢酶转化为无害的分子氧和水,从而有效地清除活性氧,防止细胞膜系统过氧化作用的发生。由图 4 可知,低强度处理时可增加聚球藻中 SOD 活性,表明聚球藻可通过提高相关抗氧化酶活性来抵御外界非生物胁迫。但在中高强度处理组中,随着辐射时间的延长,SOD 活性先升高后降低,辐射 1 h 时,各处理组中 SOD 活性升高,其中 Muv 处理组中 SOD 活性最高($20.26 \text{ U}/\mu\text{g}$),表明在 UV-B 辐射下,聚球藻为抵御非生物胁迫,提高了相关抗氧化酶、生物转化酶等的活性。但随辐射时间的延长,中高强度的 UV-B 辐射可使聚球藻中 ROS 平衡被打破,造成相关抗氧化酶活性降低。

2.5 UV-B 辐射胁迫下聚球藻中 MDA 含量的变化

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物之一,与藻细胞在逆境胁迫下遭受伤害及活性氧积累诱发的膜脂过氧化作用密切相关,通常利用它作为膜脂过氧化强弱的一个重要指标。

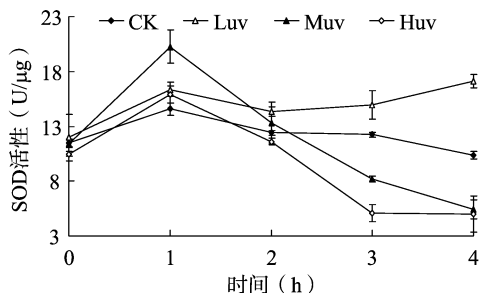


图4 聚球藻中SOD活性对UV-B辐射的响应

UV-B辐射胁迫下聚球藻中MDA含量的变化(图5)显示,随着UV-B辐射强度的增加和时间的延长,细胞中MDA含量逐渐上升,在Huv处理组中,藻细胞内MDA含量达到最大值, 10^7 个细胞中含MDA 0.263 nmol,表明随着UV-B辐射强度的增加,膜脂过氧化加剧,细胞损伤严重,从而抑制藻细胞的生长与叶绿素的合成。

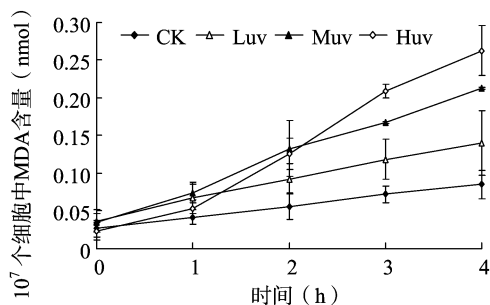


图5 UV-B辐射胁迫下聚球藻中MDA含量的变化

3 讨论

近年来由于人类过量使用氟氯烃类化合物(如CFCs)和化肥(可导致 NO_2 的释放),直接导致了臭氧层空洞的出现及扩大^[10];同时温室气体的释放也导致平流层温度下降,并导致极地臭氧层的减少^[11]。臭氧层损耗的直接后果是导致地面UV-B辐射加强,这对水生生态系统构成了巨大的威胁,藻类作为水生生态系统的重要初级生产者,在整个生态系统中有着举足轻重的地位。Smith等^[12]的研究表明,UV-B辐射增强可导致南极水域的初级生产力损失6%~12%,可见,UV-B辐射增强对生态系统产生巨大影响。

本研究以聚球藻7942为材料,初步研究了UV-B辐射增强对其生长的影响,结果表明:中高强度的UV-B辐射($\geq 5.5 \mu\text{W}/\text{cm}^2$)可严重抑制聚球藻7942的生长,并降低其叶绿素a及可溶性蛋白质含量,表明UV-B可对藻细胞内的色素、蛋白质等生物大分子造成损伤或抑制其合成,从而抑制其生长。这与Zhang等^[13]和刘晓娟等^[9]的研究结果基本一致,另一方面,在UV-B辐射胁迫下,聚球藻细胞内SOD活性先上升后下降,MDA含量明显升高,表明UV-B辐射使细胞中ROS的产生和消除间的平衡被破坏,ROS的积累导致细胞膜受损,导致藻细胞生长受到抑制^[14-15],因此,UV-B

辐射亦可通过诱导产生过量的ROS,造成对藻细胞膜结构的破坏,进而影响藻细胞的生长。

参考文献:

- [1] 张利红,马溪平,陈忠林,等. UV-C辐射对小麦幼苗光合特性及抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报,2007,26(1): 136-139.
- [2] 周伟华,殷克东. 紫外线B对海洋生态系统的影响[J]. 生态环境,2005,14(3):343-438.
- [3] 李丽霞,赵妍,周斌,等. UV-B辐射对大型海藻鼠尾藻抗氧化酶活性及同工酶谱的影响[J]. 中国海洋大学学报,2009,39(6):1246-1250.
- [4] Kobraei M E, White D S. Effects of 2,4-dichloroethoxyacetic acid on Kentucky aglae: simultaneous laboratory and field toxicity testings [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1996,31(4):571-580.
- [5] Stanier R Y, Kunisawa R, Mandel M, et al. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales) [J]. Bacteriological Reviews, 1971,35:171-205.
- [6] 华汝成. 单细胞藻类的培养与利用[M]. 北京:农业出版社, 1986:87.
- [7] Deng X Y, Gao K, Sun J L. Physiological and biochemical responses of *Synechococcus* sp. PCC 7942 to Irgarol 1051 and diuron [J]. Aquatic Toxicology, 2012,122/123:113-119.
- [8] Deng X Y, Gao K, Sun J L. Growth characteristics and nutrient removal properties of the freshwater cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC7942 under different kinds of nitrogen sources [J]. African Journal of Microbiology Research, 2012,6(23):4927-4931.
- [9] 刘晓娟,李爱芬,段舜山. UV-B辐射对绿色巴夫藻生长及抗氧化酶的影响[J]. 海洋科学,2007,31(4):48-52.
- [10] Bouwman A. Nitrogen oxides and tropical agriculture [J]. Nature, 1998,392:66-67.
- [11] Shindell D T, Rind D, Loneragan P. Increased polar stratospheric ozone losses and delayed eventual recovery owing to increasing greenhouse-gas concentrations [J]. Nature, 1998,392:589-592.
- [12] Smith R C, Prezelin B B, Baker K S. Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters [J]. Science, 1992,255:952-959.
- [13] Zhang P Y, Yu J, Tang X X. UV-B radiation suppresses the growth and antioxidant systems of two marine microalgae, *Platymonas subcordiformis* (Wille) Hazen and *Nitzschia closterium* (Ehrenb.) W. Sm [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2005,47(6):683-691.
- [14] Xiong L, Xie P, Sheng X M, et al. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005,60(2):188-192.
- [15] 蔡恒江,唐学玺,张培玉,等. 3种海洋赤潮微藻抗氧化酶活性对UV-B辐射增强的响应[J]. 中国海洋大学学报,2006,36(1): 81-84.