

UV-B 辐射对绿色巴夫藻生长及抗氧化酶的影响

刘晓娟, 李爱芬, 段舜山

(暨南大学 水生生物研究所, 广东 广州 510632)

摘要:研究了不同辐照强度的 UV-B 辐射对绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis* Tseng) 生长、光合色素和两种抗氧化酶的影响。结果表明, (1) 低强度辐射处理的绿色巴夫藻在正常培养后生长有所恢复, 经辐照强度为 $2 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 的 UV-B 处理的藻在培养第 10 天的吸光度与对照接近, 大于 $6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 的 UV-B 处理的藻基本无法恢复生长; (2) 处理组叶绿素 a (Chla) 含量均低于对照, 且随辐射强度的增大不断下降, 辐照强度为 $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 处理组比对照下降了 85.20%; (3) 类胡萝卜素 (CAR) 含量和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性均随辐射强度的增大先升高后下降, 最高含量分别比对照提高了 38.55% 和 49.41%; (4) 过氧化酶 (POD) 活性随辐射强度的增大不断升高, 辐照强度为 $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 处理组是对照的 7.98 倍。UV-B 辐射对绿色巴夫藻生长产生了明显的抑制作用, CAR, SOD 和 POD 可能在绿色巴夫藻抵抗 UV-B 辐射中起着保护作用。

关键词: UV-B 辐射; 绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis* Tseng); 光合色素; 抗氧化酶

中图分类号: Q949.26

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2007)04-0048-05

大气臭氧层减薄导致地表紫外辐射增强是全球性的三大环境问题之一。臭氧层的破坏甚至出现臭氧空洞的直接后果是 UV-B 辐射的增加^[1,2]。藻类是海洋生态系统的初级生产者, 在海洋生态系统中起着十分重要的作用。Smith 等^[3]人的研究表明, UV-B 辐射的增强导致南极水域 6%~12% 的初级生产力受到损失, 可见, UV-B 辐射的增强对海洋浮游植物乃至整个海洋生态系统都产生了巨大的影响。

研究表明, UV-B 辐射的增强使藻类的生物量大幅度下降^[4], 光合色素^[5]和抗氧化系统^[6]受到破坏, 不同藻类对 UV-B 辐射的响应存在着很大的差异^[7]。作者选用绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis* Tseng) 为实验材料, 研究了不同 UV-B 辐射处理对 *P. viridis* 生长、光合色素含量和两种抗氧化酶活性的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料

绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis* Tseng) 来自暨南大学水生生物研究所藻种室。采用 $f/2$ 培养基, 盐度为 30, 培养温度为 20 ± 1 , 光照强度为 $2\ 500 \sim 3\ 000 \text{ lx}$, 光暗比 L:D 为 12 h:12 h 的人工气候箱中, 培养到指数生长末期进行 UV-B 处理。

1.2 UV-B 辐射处理

在光照培养箱上方安装两根功率为 8 W, 波长为

312 nm 的 UV-B 灯管, 灯管外用醋酸纤维素薄膜包被, 以除去 280 nm 以下的短波辐射, 用北京师范大学光电仪器厂生产的 UV-B 型紫外辐照计测定辐射强度。通过变换培养皿与灯管的距离获得需要的 UV-B 强度, 实验设定的 UV-B 辐射强度为 $2, 4, 6, 8, 10$ 和 $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, 另设无紫外照射的对照组。试验参照于娟^[8-10]的方法, 将处于对数期的藻液 (照射的藻液远远大于挥发部分) 倒入培养皿中, 置于紫外灯下照射 12 h, 然后转移至 250 mL 三角瓶中, 完全黑暗条件下培养 24 h, 再转移至光强为 $2\ 500 \sim 3\ 000 \text{ lx}$ 、温度为 20 ± 1 的光照培养箱中, L:D 为 12 h:12 h 继续培养, 每种处理设 3 个重复组。

1.3 生长曲线和相对增长率的测定

用 722 型分光光度计测定 680 nm 处藻液的吸光度 (A), 用吸光度的相对大小间接地反映藻液细胞密度的大小。相对增长率 $K^{[11]} = (\log_2 A_1 - \log_2 A_0) / (t_1 - t_0)$ 。K

收稿日期: 2005-10-10; 修回日期: 2006-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30370231); 广东省科技计划重点引导项目 (2005B33201001)

作者简介: 刘晓娟 (1980-), 女, 山东烟台人, 博士研究生, 研究方向为藻类生物学, 电话: 020-38374540, E-mail: lxj04270609@126.com

为相对增长率, A_0 为开始时藻的吸光度, A_1 为经过 $t_1 - t_0$ 时间后藻的吸光度。

1.4 叶绿素 a 和类胡萝卜素的测定

辐射处理后的 72 h 按文献 [12, 13] 的方法进行测定。

1.5 蛋白质质量浓度的测定

辐射处理后 72 h 进行测定, 蛋白质质量浓度采用南京建成生物工程公司生产的考马斯亮兰蛋白测定试剂盒。蛋白质质量浓度 C_{pr} (g/L) = (测定管吸光度 / 标准管吸光度) × 标准管质量浓度。

1.6 超氧化物歧化酶 (SOD) 的测定

辐射处理后 72 h 进行测定, SOD 活性的测定采用南京建成生物工程公司生产的试剂盒。定义每 mg 蛋白质中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位 (U)。SOD 活力 (U/mg) = (对照管吸光度 - 测定管吸光度) × 样品稀释倍数 / (50% 对照管吸光度 × C_{pr})

1.7 过氧化物酶 (POD) 的测定

辐射处理后的 72 h 进行测定, POD 活性参照波钦诺克方法 [14] 测定, 采用愈创木酚法, 反应体系包括 2 mL 酶提取液、1 mL 0.3% 的愈创木酚、1 mL 0.5 mol/L 的 H_2O_2 , 反应 15 min 后于 440 nm 处测定吸光度。定义每 min 内每 mg 蛋白质 A_{440} 变化 0.01 为一个 POD 酶活力单位。POD 活力 (U/mg) = $A_{440} \times$ 样品稀释倍数 / (0.01 × C_{pr} × t), A_{440} 为反应时间内吸光度的变化, t 为反应时间。

2 结果与分析

2.1 不同 UV-B 辐射强度对 *P. viridis* 生长的影响

图 1 为 *P. viridis* 经不同 UV-B 辐射处理后培养 10 d 的生长曲线。由图可见, 在辐射处理后的初期, 各处理组的生长均低于对照组, 且随辐射强度的增大, *P. viridis* 的生长受抑制程度越明显, 经 t 检验, 各处理组与对照相比, 藻的吸光度均表现显著差异 ($P < 0.01$)。说明 UV-B 辐射对其生长产生明显的抑制作用。

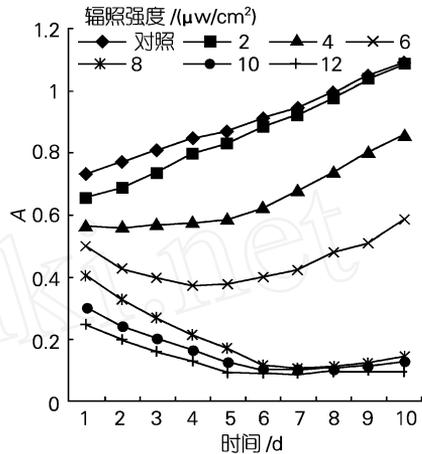


图 1 *P. viridis* 经不同 UV-B 强度处理后的生长曲线
Fig. 1 The growth curve of *P. viridis* under different UV-B intensity treatments

辐射处理后的正常培养条件下, 低辐射强度处理的藻恢复生长, $2 \mu W/cm^2$ 组辐射处理后的藻一直处于生长状态, 但生长水平低于对照组, 在培养的第 10 天吸光度是对照的 99.72%, 差异不显著 ($P > 0.05$)。 $4 \mu W/cm^2$ 组在培养的前 2 天吸光度下降, 第 3 天开始恢复生长, 培养第 10 天的吸光度是对照的 78.70%。 $6 \mu W/cm^2$ 组在培养的前 4 天吸光度不断下降, 从第 5 天开始恢复生长, 培养第 10 天的吸光度是对照的 53.35%。经 8, 10 和 $12 \mu W/cm^2$ 处理的藻的生长受到严重抑制, 随培养时间的延长, 吸光度不断下降, 培养到第 10 天的吸光度分别是对照的 12.86%、11.29% 和 8.63%。

图 2 为 *P. viridis* 经不同 UV-B 辐射处理后培养 10 d 的平均相对增长率。 $2 \mu W/cm^2$ 和 $4 \mu W/cm^2$ 处理组的平均相对增长率高于对照, 分别比对照提高了 26.79% 和 4.60%。 $6 \mu W/cm^2$ 处理组的平均相对增长率比对照下降了 59.95%。 $8 \sim 12 \mu W/cm^2$ 处理范围内的平均相对增长率呈负增长趋势。经 t 检验, 与对照组相比, 除 $2 \mu W/cm^2$ 和 $4 \mu W/cm^2$ 处理组外, 其他各处理组的平均相对增长率的抑制作用均达到显著水平 ($P < 0.01$)。说明低强度处理对藻的生长有促进作用, 高强度处理的藻很难恢复生长。

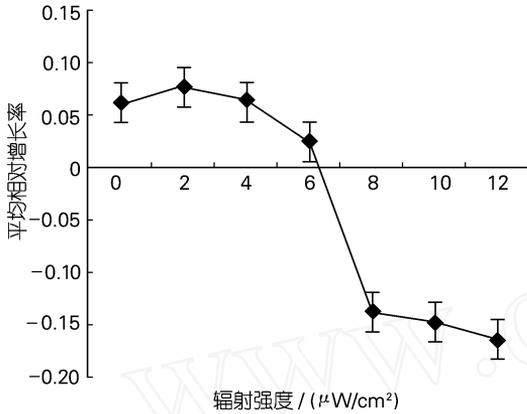


图2 *P. viridis* 经不同 UV-B 强度处理后 10 d 的平均相对增长率

Fig. 2 10 d average relative growth rate of *P. viridis* under different UV-B intensity treatments

2.2 不同 UV-B 辐射强度对 *P. viridis* Chla 和类胡萝卜素 (CAR) 含量的影响

辐射处理后培养到 72 h 时, *P. viridis* 的 Chla 和 CAR 含量存在着差异 (图 3)。在 2 ~ 6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 处理范围内, Chla 含量下降较缓慢, 分别比对照下降了 15.20%、20.80% 和 28.80%, 辐射强度为 12 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时仅为对照的 14.80%。CAR 含量随辐射强度的增大先升高后下降, 辐射强度为 2, 4 和 6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时分别比对照提高了 17.47%、38.55% 和 28.31%, 辐射强度为 12 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时明显下降, 比对照下降了 59.04%。说明 UV-B 辐射使 Chla 含量不同程度降低, CAR 含量的升高可能与 *P. viridis* 抗氧化作用有关。

2.3 不同 UV-B 辐射强度对 *P. viridis* SOD 和 POD 活性的影响

辐射处理后培养 72 h, 不同 UV-B 辐射强度对 *P. viridis* SOD 和 POD 活性的变化结果见图 4。由图可见, 两种酶在不同辐射处理下存在着差异。SOD 活性随辐射强度的增大先升高后下降, 在 2 ~ 10 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 处理范围内, SOD 活性均高于对照, 辐射强度为 2, 4 和 6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时, SOD 活性分别比对照提高了 49.41%、46.35% 和 45.41%, 辐射强度为 8 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 和 10 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时, SOD 活性分别比对照提高了 24.94% 和 13.18%, 辐射强度为 12 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时, SOD 活性比对照下降了 28.24%, 说明低辐射强度处理 SOD 活性升高, 高辐射强度处理 SOD 活性降低。POD 活性随辐射强度的增加不断升高, 辐射强度为 2 ~ 6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时增大比较迅速, 分别是对照的 2.92 倍、

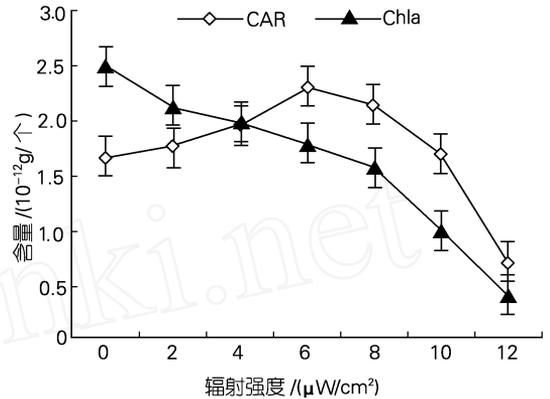


图3 *P. viridis* 经不同 UV-B 强度处理后 72 h 的 Chla 和 CAR 含量变化

Fig. 3 The changes of 72 h Chla and CAR contents of *P. viridis* under different UV-B intensity treatments

5.81 倍和 6.56 倍, 在 8 ~ 12 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 处理范围内, POD 活性增大相对较平缓, 分别是对照的 7.20 倍、7.88 倍和 7.98 倍。说明 POD 活性的增加可能是 *P. viridis* 抵抗 UV-B 辐射的一种自身保护机制。

3 讨论

3.1 UV-B 辐射对 *P. viridis* 生长具有明显抑制作用, 低强度处理的藻在解除辐射后恢复生长

本研究结果表明, 在辐射处理初期, 随 UV-B 辐射强度的增大, *P. viridis* 生长受抑制越严重, 藻的吸光度与对照相比均表现出显著差异 ($P < 0.01$), 说明 UV-B 辐射对 *P. viridis* 的生长具有明显的抑制作用。Zhang 等^[15] 研究表明, *Platymonas subcordiformis* 和 *Nitzschia closterium* 随辐射强度的增大生长速率明显受到抑制。Jiang 等^[16] 报道, *Microcystis aeruginosa* 每天在 1.05 W/cm^2 UV-B 辐射下 3 h, 生长速率比对照下降了 9%。以上结果与本研究结果一致。

在辐射处理后的培养中, 低辐射强度处理的藻恢复生长, 辐射强度为 2 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 和 4 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时, 10 d 的平均相对增长率均高于对照, 说明 UV-B 轻度伤害对 *P. viridis* 的生长有促进作用。齐雨藻等^[17] 的研究表明, 低剂量紫外辐射对微藻产生的是伤害作用而不是致死作用, 在辐射处理后的正常生长阶段, 许多受创伤的藻细胞处于修复阶段, 充足的光照和较高浓度的营养盐有利于藻细胞的恢复。刘成圣等^[18] 对三角褐指藻 DNA 伤害的研究指出, 解除 UV-B 辐射一

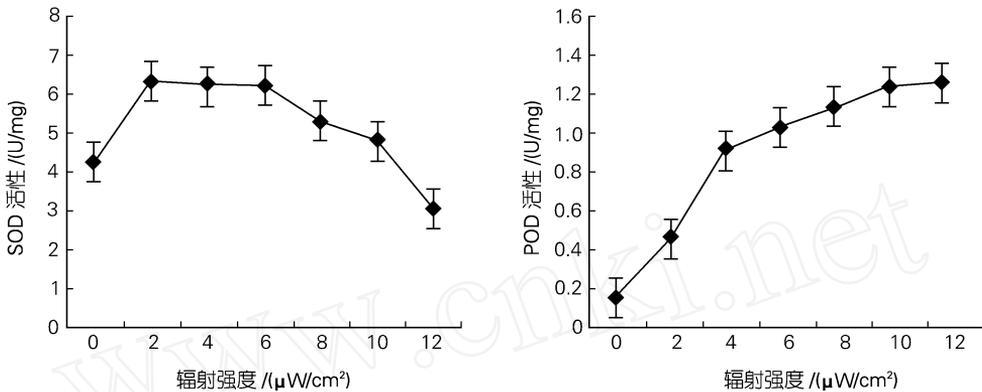


图4 *P. viridis* 经不同 UV-B 强度处理后 72h 的 SOD 和 POD 活性变化

Fig. 4 The changes of 72h SOD and POD activities of *P. viridis* under different UV-B intensity treatments

段时间后 DNA 损伤可明显恢复。*Microcystis aeruginosa* 的 CAR 含量提高,藻胆蛋白降解,从而使 DNA 损伤减轻,提高了光合器官的恢复能力^[16]。D1 蛋白的周转对于光系统 II 损伤与修复循环起着重要的作用,在恢复生长阶段,D1 蛋白的修复速率大于损伤速率,光合活性提高^[19]。此外,光系统 II 的修复还与光照、营养盐、浮游植物物种以及不同物种的光保护机制有关^[20]。

3.2 UV-B 辐射的增强使 *P. viridis* Chla 含量降低,CAR 含量、SOD 和 POD 活性的升高可能与抗 UV-B 有关

生物体内一般存在抗氧化酶系统和抗氧化剂系统来防御活性氧的毒害^[21,22]。抗氧化酶系统是指以 SOD 为中心的与抗氧化有关的一些抗氧化酶类,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽还原酶(GR)等。其中 SOD 和 POD 是植物体内两种重要的抗氧化酶,它们具有清除活性氧、保护植物体免受伤害的作用。

$2\text{O}_2^{\cdot -} + 2\text{H}^+ \xrightarrow{\text{SOD}} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$, $\text{SH}_2 + 2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{POD}} \text{S} + 2\text{H}_2\text{O}$,因此 SOD 与 POD 等其它保护酶协同作用才能清除活性氧。抗氧化剂系统主要是指生物体内存在的一些低分子化合物,能与活性氧反应降低体内活性氧含量的非酶系统。这类化合物有 CAR、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、维生素 E、还原型抗坏血酸(ascorbic acid, ASA)、维生素 C 等。CAR 作为生物体内一种重要的抗氧化剂,有保护叶绿素分子免遭光氧化的作用。

UV-B 辐射增强使 *P. viridis* Chla 含量降低,这与 *Platymonas subcordiformis*, *Nitzschia closterium*, *Microcystis aeruginosa* 在 UV-B 辐射下的反应相同^[15,16]。本研究中 CAR 含量,SOD 和 POD 活性

均升高,*M. aeruginosa* 在 $1.05 \text{ W}/\text{cm}^2$ UV-B 辐射下,CAR 含量比对照提高了 27%,而 Zhang 等^[15,16]的研究中 CAR 含量和抗氧化酶活性均下降,可能因为不同藻对 UV-B 的敏感性不同。CAR 含量和 SOD 活性有相同的变化趋势,都随辐射强度的增大先升高后下降。辐射强度为 $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时,Chla 含量下降到对照的 14.80%,CAR 含量和 SOD 活性均低于对照,其它处理组均高于对照;且在 Chla 含量下降较缓慢的辐射处理下($2 \sim 6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 处理范围内),CAR 含量和 SOD 活性均比对照有明显的升高,可见,CAR 含量和 SOD 活性的变化与 Chla 含量的变化有一定的联系。POD 活性随辐射强度的增大不断上升,且均高于对照组。这些都表明了 CAR 和两种抗氧化酶在 *P. viridis* 抗 UV-B 辐射中发挥着一定的作用,其具体的机理还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] Kerr J B, McElory C T. Evidence for large upward trends of ultraviolet - B radiation linked to ozone depletion[J]. *Science*, 1993, 262: 1 032-1 034.
- [2] Madronich R L, Mckenzie M M. Changes in ultraviolet radiation reaching the Earth's surface[J]. *Ambio*, 1995, 24: 143-152.
- [3] 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.
- [4] Sophia R, Phteinos S, Daniel D, et al. UV effects on invertebrate and diatom assemblages of Greece[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2000, 56: 172-180.
- [5] Dohler G, Lohmann M. Impact of UV radiation of different wavebands on the pigmentation of the haptophycean *Pavlova*[J]. *Journal of Photochemistry and*

- Photobiology B: Biology**, 1995, 27: 265-270.
- [6] Casati P V, Lara M S, Andreo C. Regulation of enzymes involved in C4 photosynthesis and the antioxidant metabolism by UV-B radiation in *Egeria densa*, a submersed aquatic species [J]. **Photosynthesis Research**, 2002, 71: 251-264.
- [7] 王悠, 杨震, 唐学玺, 等. 7种海洋微藻对UV-B辐射的敏感性差异分析[J]. 环境科学学报, 2002, 22(2): 225-230.
- [8] 于娟, 唐学玺, 李永祺, 等. UV-B辐射对海洋微藻抗氧化系统的影响[J]. 海洋科学, 2002, 26(12): 49-53.
- [9] 刘泳, 王悠, 唐学玺, 等. UV-B辐射对两种海洋微藻生长的影响[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(2): 22-26.
- [10] 于娟, 唐学玺, 李永祺. 紫外线-B辐射对海洋微藻的生长效应[J]. 海洋科学, 2002, 26(2): 6-8.
- [11] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京: 农业出版社, 1995. 36-37.
- [12] Parsons T R, Matita Y, Lalli C M. Determination of Chlorophyll and Total Carotenoids: Spectrophotometric Method[M]. Oxford: Pergamon press, 1984. 101-104.
- [13] 湛江水产专科学校. 海洋饵料生物培养[M]. 北京: 农业出版社, 1980. 198-201.
- [14] 波钦诺克 X H. 植物生物化学分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1981. 197-201.
- [15] 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.
- [16] Jiang H B, Qiu B S. Photosynthetic adaptation of a bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) to prolonged UV-B exposure [J]. **Journal of Phycology**, 2005, 41, 983-992.
- [17] 齐雨藻, 黄长江, 应浙鸿, 等. 紫外光对有毒甲藻塔玛亚历山大藻的生态学效应[J]. 海洋与湖沼, 1997, 28(2): 113-120.
- [18] 刘成圣, 唐学玺, 王艳玲, 等. UV-B辐射对三角褐指藻DNA伤害的研究[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(2): 45-48.
- [19] Aro E M, Virgin I, Andersson B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover [J]. **Biochim. Biophys. Acta**, 1993, 1143: 113-34.
- [20] Bouchard J N, Campbell D A, Roy S. Effects of UV-B radiation on the D1 protein repair cycle of natural phytoplankton communities from three latitudes (Canada, Brazil, and Argentina) [J]. **Journal of Phycology**, 2005, 41: 273-286.
- [21] 曹锡清. 脂质过氧化对细胞与肌体的作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986, 2: 17-23.
- [22] 陈瑗, 周玫. 自由基医学基础与病理生理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 1: 121.

Effects of UV-B radiation on growth and antioxidant enzyme of *Pavlova viridis*

LIU Xiao-juan, LI Ai-fen, DUAN Shun-shan

(Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Received: Oct. 10, 2005

Key words: UV-B radiation; *Pavlova viridis*; photosynthetic pigment; antioxidant enzyme

Abstract: Effects of different UV-B radiation intensities on growth, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes were studied on *Pavlova viridis* Tseng. The results are as follows, (1) Lower radiation could recover growing during the normal culture after radiation treatments, *P. viridis* could catch up with the control on the tenth day under $2 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, the growth of *P. viridis* higher radiation ($> 6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) could not recover growing; (2) The content of Chla was lower than the control's, decreased as increasing radiation intensity, the content of Chla was 85.20% decrease of the control's under $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$; (3) The contents of carotenoid and superoxide dismutase (SOD) firstly increased and then decreased as the radiation intensity enhanced, the highest contents were 38.55% and 49.41% respectively higher than the control's; (4) The contents of peroxidase (POD) increased as the increased radiation intensity, the content of POD was 7.98 times of the control's under $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Chla content decreased under UV-B radiation, carotenoid, SOD and POD may protect *P. viridis* from UV-B radiation.

(本文编辑: 张培新)