

UV-B 辐射增强对孔石莼生长和孢子萌发的影响

王 展¹, 孙彬凯¹, 刘雪华^{2,3,4}, 郇 丽^{2,3}, 王广策^{2,3}, 秦雨彤¹, 刘家赫¹,
陈 雨¹, 奚鹤鸣¹

(1. 山东省青岛第五十八中学, 山东 青岛 266100; 2. 中国科学院海洋研究所 海洋大科学研究中心 实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋生物学与生物技术功能实验室, 山东 青岛 266237; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 测定了不同辐射强度的中波紫外线(UV-B)对潮间带海藻—孔石莼相对生长率、光合生理活性以及孢子萌发情况的影响。研究表明: UV-B 抑制孔石莼的生长, 随着辐射强度增加, 抑制作用加强, 同时 UV-B 也会抑制孢子萌发, 4 kJ/m² 的辐射强度即可达到明显的抑制作用。此外, UV-B 辐射使孔石莼叶绿素荧光参数(F_v/F_m 、 Y_I 、 Y_{II})值降低, 随着处理时间延长, 孔石莼光合生理活性显著降低。相对于光系统 I, 光系统 II 对于 UV-B 造成的环境胁迫更为敏感。本研究为 UV-B 可能影响其它潮间带生物或生态系统的研究提供了理论基础。

关键词: 孔石莼; 中波紫外线; 孢子萌发; 光合活性

中图分类号: Q418 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2019)03-0000-05

DOI: 10.11759/hyxx20180605001

依据波长的不同, 紫外线(ultraviolet, UV)可分为 3 类, 分别为短波(200~280 nm, UV-C)、中波(280~320 nm, UV-B)和长波(320~400 nm, UV-A)。臭氧对它们的吸收程度不同, 产生的生物效应也不同。UV-C 几乎可以全部被臭氧吸收, 不能到达地面, 不会造成危害; UV-A 能通过臭氧层, 但是对生物的危害较小; 对于 UV-B, 臭氧层只能截留 90%, 剩余的 10% 可以到达地面, 对地表的生物产生明显的生物学和生态学效应^[1,2]。

在自然条件下, 臭氧的生成与分解处于动态平衡, 臭氧层基本保持稳定。但是自 20 世纪以来, 随着科技的发展, 氯氟烃(可用作制冷剂、发泡剂等)的大量使用和航空航天飞行器(排放氮化物等)的大量增加, 造成了臭氧层的破坏^[3]。在南极大陆上空, 臭氧空洞已形成, 到达地表的 UV-B 辐射不断增加^[4]。评估报告指出, 相比 1980 年, 目前因臭氧层破坏导致到达地表的太阳紫外辐射增加了 6%~14%^[5]。近年来, 全球对日益增强的紫外线作用愈加关注, 紫外线对生物产生的生理生化影响以及生物对其响应的机制研究等也已经成为热点问题^[5-7]。

潮间带位于海洋和陆地的过渡地带, 是生物圈中最敏感的生态系统之一。许多大型海藻栖息于潮间带, 受潮汐作用的影响, 周期性地暴露于海水或

空气中, 容易受到紫外胁迫的影响。研究表明, UV-B 对于大型海藻的生长、光合作用、色素合成等会产生不同程度的影响^[8-10]。孔石莼(*Ulva pertusa*), 主要生长在潮间带的岩石上或石沼中, 隶属于绿藻门, 广泛分布于世界各地, 在我国江苏、山东、河北、辽宁等地沿海均有分布。藻体富含多糖和不饱和脂肪酸等物质, 具有一定的抗氧化作用, 对癌症、心血管疾病、关节炎等的发病有抑制作用^[11-14]。此外, 孔石莼还具有一定的生态价值, 藻体可高效去除氨氮和磷酸盐, 适用于净化工厂化养殖废水, 防止富营养化水体危害养殖生物, 避免水体向外部海域排放时造成污染^[15,16]。

本研究选择孔石莼为研究对象, 拟进行藻体在不同 UV-B 辐射强度下生长发育、光合活性的变化分析, 以期研究 UV-B 辐射对其它海洋生物或海洋生态系统的影响提供基础参考。

收稿日期: 2018-06-05; 修回日期: 2018-10-19

基金项目: 国家自然科学基金(41676157, 41606159, 41606161); 现代农业产业技术体系专项资金(CARS-50)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No.41676157, No.41606159, No.41606161; China Agriculture Research System, No.CARS-50]

作者简介: 王展(2002-), 女, 山东青岛人, E-mail: 18663900678@163.com; 郇丽, 通信作者, 电话: 0532-82898575, E-mail: huanli@qdio.ac.cn

1 材料和方法

1.1 材料的采集与处理

本实验所使用的孔石莼采自青岛第二海水浴场, 取回后用灭菌海水洗净, 用打孔器打成直径为 2 cm 的圆片, 在含有灭菌海水的培养皿中培养, 培养温度为 20°C, 光照强度为 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光暗周期比为 12 h : 12 h。

设置 5 种不同辐射强度的紫外线处理藻体, 分别为 2, 4, 6, 8 和 10 kJ/m^2 , 对照组采用正常日光灯管照射。培养 12 天后, 测定各实验组材料的生理生化指标。

1.2 生长状况测定

培养 12 天后, 将藻体表面水分用吸水纸吸干, 测定质量, 以对照组生物量为参照将其转换成相对增长率(relative growth rate, R_{RG})。计算公式为: $R_{RG} = (m_{12, \text{处理}}/m_{12, \text{对照}}) \times 100\%$ 。其中, $m_{12, \text{处理}}$ 为处理组藻体第 12 天的质量, $m_{12, \text{对照}}$ 为对照组藻体第 12 天的质量。

1.3 叶绿素荧光参数测定

藻体叶绿素荧光参数使用 Dual-PAM-100(Walz, 德国)进行测量, 测定孔石莼在 4 kJ/m^2 辐射强度下不同处理时间的光合活性。在测量光诱导曲线(Ind. Curve)前, 藻体需在暗处适应 5~10 min。每个处理独立进行 3 次测量。

1.4 孢子萌发情况观察

将藻体置于高光下($\sim 500 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)刺激孢子释放, 在显微镜下观察孢子释放情况, 孢子大量释放后 1000 r/min 离心 1 min, 弃上清, 重新用海水悬浮, 得到均匀的孢子悬液。吸取等量的孢子悬浮液于 200 mL 灭菌海水中进行培养, 设置不同的辐射强度(同上), 每个处理组设置 3 个平行, 15 天后观察孢子的萌发情况。

2 结果

2.1 不同辐射强度对孔石莼生长的影响

根据孔石莼相对增长率的结果, 我们发现 UV-B 辐射增强对藻体生长具有明显的抑制作用; 随着 UV-B 辐射强度的增加, 抑制作用也更加明显(图 1)。在 2 kJ/m^2 的辐射强度下, 孔石莼的生长已受到显著抑制($P < 0.05$), 与对照组相比其相对增长率下降了 18.00%。在 10 kJ/m^2 的辐射强度下, 抑制作用最为明显, 藻体相对增长率比对照组下降了 33.57%。

图 1 不同辐射强度 UV-B 处理孔石莼 12 天后的相对增长率

Fig. 1 Relative growth rate of *Ulva pertusa* treated with different ultraviolet-B (UV-B) radiation intensities for 12 days

2.2 UV-B 对孔石莼光合活性的影响

植物在逆境因子的胁迫下, 几乎所有的生理过程都会发生变化, 响应机制非常复杂。光合作用对胁迫反应最为敏感, 因此本研究从光合作用入手分析孔石莼在紫外线作用下的应对策略。 F_v/F_m 是研究光合生物生理状态的重要参数, 反映光系统 II 最大光能转换效率^[17]。在正常条件下, 该参数变化范围较小, 但在逆境条件下(干出、高盐等), 该参数显著降低^[18, 19]。

在 UV-B 辐射强度为 4 kJ/m^2 的条件下, 孔石莼 F_v/F_m 随着辐射时间的延长而下降(图 2)。培养 12 d 时, F_v/F_m 下降到 0.25, 相对于对照组降低了 0.63, 表明藻体的光合活性受到了 UV-B 的胁迫。随着辐射时间的增加, 光系统 I 和光系统 II 的实际光合量子产量(Y_I 和 Y_{II})也呈现下降趋势。但是在不同处理时间下, Y_I 均高于 Y_{II} , 光系统 I 在此过程中保持了较高的活性。此外, Y_{II} 下降趋势较 Y_I 更为显著。这些结果表明在 UV-B 胁迫过程中, 光系统 I 的耐受能力更强。

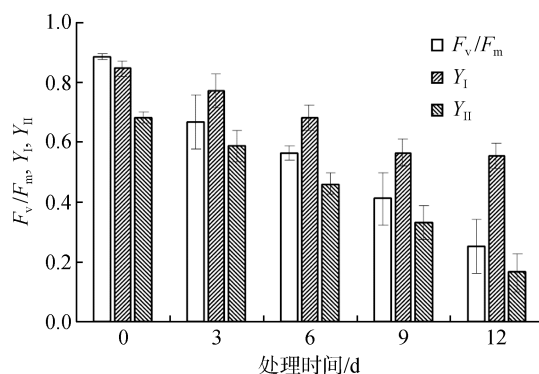


图 2 4 kJ/m^2 UV-B 辐射下孔石莼光合活性随处理时间的变化

Fig. 2 Changes in photosynthetic activity of *Ulva pertusa* under different treatment times with a 4 kJ/m^2 radiation intensity

2.3 不同辐射强度对孢子萌发的影响

在未经过 UV-B 辐射处理的对照组中, 孔石莼孢子可正常萌发成幼苗。在 2 kJ/m² 的 UV-B 辐射处理条件下, 孢子也能正常萌发, 生成小苗。但是在 4 kJ/m² 的辐射条件下, 仅有一小部分的孔石莼孢子顺利萌发, 说明该辐射强度已经对孔石莼的孢子萌发产生了抑制。随着辐射强度的增强, 孢子未能萌发, 说明此时 UV-B 的辐射强度对孔石莼孢子的萌发有较大的抑制作用(表 1)。

表 1 不同辐射强度 UV-B 对孔石莼孢子萌发的影响
Tab. 1 Effects of different ultraviolet-B (UV-B) radiation intensities on spore germination of *Ulva pertusa*

辐射强度 / (kJ/m ²)	萌发情况	辐射强度 / (kJ/m ²)	萌发情况
0	有小苗	6	无
2	有小苗	8	无
4	少量小苗	10	无

3 讨论

UV-B 辐射增强对植物生长发育的影响是目前科学研究的热点之一。随着臭氧的不断减少, 到达地表的 UV-B 辐射增强, 对植物的形态结构、光合生理代谢、抗氧化系统等多方面造成了严重影响^[20]。藻类是海洋生态系统的初级生产者, 发挥着重要的作用。相关研究结果表明, 由于南极臭氧空洞的形成, 导致 UV-B 辐射增强, 使南极水域 6%~12% 的初级生产力受到损失, 严重影响了海洋浮游植物、动物乃至生态系统^[21-23]。在我们的实验结果中, 由图 1 和表 1 可知, 潮间带大型海藻—孔石莼在遭受 UV-B 辐射增强时, 其生长和孢子萌发率均显著低于对照组; 随着辐射强度的增加, 藻体的生长和发育受到的影响越明显。即使在 2 kJ/m² 的辐射强度下, 藻体相对增长率也显著降低, 说明孔石莼对 UV-B 辐射非常敏感, 低量的 UV-B 辐射即会抑制其生长。这些结果表明 UV-B 辐射增强对孔石莼的生长和发育造成了一定的影响。

藻类的光合作用是其生长和应对不良环境胁迫的必须过程。光合作用需要两个光系统的协同互动, 分别为光系统 I 和光系统 II。在 UV-B 的辐射作用下, 孔石莼的最大光化学量子产量 F_v/F_m 随着辐射的增强而下降, 说明孔石莼的最大光合作用能力受到抑制, 且辐射强度越强, 抑制作用越明显。与此同时,

Y_I 和 Y_{II} 也表现出相同的趋势(图 2), 说明光系统 I 和光系统 II 在 UV-B 辐射过程中受到了损伤。有研究表明, 在胁迫条件下, 光系统 I 相对于光系统 II 表现出更强的抗性^[24]。在本研究中, 孔石莼在 UV-B 辐射作用下, Y_I 下降程度小于 Y_{II} , 即光系统 I 表现出较强的抗性, 这与之前的研究结果一致。我们推测是由于环式电子传递在此过程中持续为光系统 I 提供电子, 维持了其在 UV-B 胁迫下的高活性, 从而帮助孔石莼抵御逆境。

参考文献:

- [1] 杨志敏, 颜景义. 紫外线辐射增加对生物的影响[J]. 生物学通报, 1995, 30(5): 17-18.
Yang Zhimin, Yan Jingyi. Effects of ultraviolet radiation on organisms[J]. Bulletin of Biology, 1995, 30(5): 17-18.
- [2] Rosario R., Mark G J, Parrish J A, et al. Histological changes produced in skin by equally erythemogenic doses of UV-A, UV-B, UV-C and UV-A with psoralens[J]. British Journal of Dermatology, 2010, 101(3): 299-308.
- [3] Hartmann D L, Wallace J M, Limpasuvan V, et al. Can ozone depletion and global warming interact to produce rapid climate change?[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(4): 1412-1417.
- [4] Rozema J, Boelen P, Blokker P. Depletion of stratospheric ozone over the Antarctic and Arctic: responses of plants of polar terrestrial ecosystems to enhanced UV-B, an overview[J]. Environmental Pollution, 2005, 137(3): 428-442.
- [5] 李丽霞. 潮间带大型海藻对 UV-B 辐射的生理响应及其种间竞争机制的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
Li Lixia. Physiological response of several intertidal marine macroalgae to UV-B irradiation and its preliminary mechanism of interspecific competition[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [6] Cockell C S. Biological effects of high ultraviolet radiation on early earth—a theoretical evaluation[J]. Journal of Theoretical Biology, 1998, 193(4): 717-729.
- [7] Pavia H, Cervin G, Lindgren A, et al. Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*[J]. Marine Ecology Progress, 1997, 157(22): 139-146.
- [8] Larkum A W D, Wood W F. The effect of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton, benthic macroalgae and seagrasses[J]. Photosynthesis Research, 1993, 36(1): 17-23.

- [9] Shiu C T, Lee T M. Ultraviolet-B-induced oxidative stress and responses of the ascorbate–glutathione cycle in a marine macroalga *Ulva fasciata*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(421): 2851-2865.
- [10] Han T J. Effect of ultraviolet-B radiation on *Ulva pertusa* Kjellman (Chlorophyta) I. Growth and pigment content[J]. 人間ドック = Ningen dock: official journal of the Japanese Society of Human Dry Dock, 1996, 11(1): 7-11.
- [11] 王艳梅, 李智恩, 徐祖洪. 孔石莼化学组分和药用活性研究进展[J]. 海洋科学, 2000, 24(3): 25-28.
Wang Yanmei, Li Zhien, Xu Zuhong. Review on chemical compositions and pharmaceutical activities of *Ulva pertusa*[J]. *Marine Sciences*, 2000, 24(3): 25-28.
- [12] 臧笑雪. 孔石莼多糖的分离和结构研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
Zang Xiaoxue. Separation and structure study of the sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006.
- [13] Qi H, Zhang Q, Zhao T, et al. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2005, 37(4): 195-199.
- [14] 孙煜焯, 常建波. 孔石莼多糖抗氧化作用的初步研究[J]. 现代农业科学, 2009, 16(4): 6-8.
Sun Yuxuan, Chang Jianbo. Preliminary study on the antioxidation of polysaccharides from *Ulva pertusa*[J]. *Modern Agricultural Sciences*, 2009, 16(4): 6-8.
- [15] 吕冬伟, 刘峰, 李兴佐. 大型海藻孔石莼在工厂化海水养殖中的生物修复及其应用前景[J]. 海洋科学, 2012, 36(12): 95-98.
Lü Dongwei, Liu Feng, Li Xingzuo. The integrated development and application of macro algae *Ulva pertusa* on factory marine aquaculture[J]. *Marine Sciences*, 2012, 36(12): 95-98.
- [16] 李勋. 集约化养殖污水处理与工艺设计[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
Li Xun. Design and optimization of wastewater treatment in intensive fish culture[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004.
- [17] Baker N R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis[J]. *Physiologia Plantarum*, 1991, 81(4): 563-570.
- [18] Huan L, Gu W, Gao S, et al. Photosynthetic activity and proteomic analysis highlights the utilization of atmospheric CO₂ by *Ulva prolifera* (Chlorophyta) for rapid growth[J]. *Journal of Phycology*, 2016, 52(6): 1103-1113.
- [19] Huan L, Xie X, Zheng Z, et al. Positive correlation between PSI response and oxidative pentose phosphate pathway activity during salt stress in an intertidal macroalga[J]. *Plant Cell Physiology*, 2014, 55(8): 1395-1403.
- [20] 方荧, 刘凤珍, 张昆, 等. UV-B 辐射增强影响作物生长发育的研究进展[J]. 山东农业科学, 2018, 50(6): 183-188.
Fang Ying, Liu Fengzhen, Zhang Kun, et al. Research advances in effect of enhanced UV-B radiation on growth and development of crops[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2018, 50(6): 183-188.
- [21] RC Smith B P, Baker K S, Bidigare R R, et al. Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in antarctic waters[J]. *Science*, 1992, 255: 952-959.
- [22] 窦勇, 王悠, 唐学玺. UV-B 增强和海洋环境因子的变化对海洋浮游动物影响的研究进展[J]. 海洋科学, 2011, 35(8): 89-94.
Dou Yong, Wang You, Tang Xuexi. Research advances in influence of UV-B enhancement and environment factor change on marine zooplankton[J]. *Marine Sciences*, 2011, 35(8): 89-94.
- [23] 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.
Liu Xiaojuan, Li Aifen, Duan Shunshan. Effects of UV-B radiation on growth and antioxidant enzyme of *Pavlova viridis*[J]. *Marine Sciences*, 2007, 31(4): 48-52.
- [24] Gao S, Shen S, Wang G, et al. PSI-driven cyclic electron flow allows intertidal macro-algae *Ulva* sp. (Chlorophyta) to survive in desiccated conditions[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2011, 52(5): 885-893.

Effects of ultraviolet-B radiation enhancement on the growth and spore germination of *Ulva pertusa*

WANG Zhan¹, SUN Bin-kai¹, LIU Xue-hua^{2, 3, 4}, HUAN Li^{2, 3}, WANG Guang-ce^{2, 3}, QIN Yu-tong¹, LIU Jia-he¹, CHEN Yu¹, XI He-ming¹

(1. Qingdao No.58 High School, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Center for Ocean Mega-Science, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Marine Biology and Biotechnology Laboratory, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Jun. 5, 2018

Key words: *Ulva pertusa*; ultraviolet-B(UV-B); spore germination; photosynthetic activity

Abstract: In the present study, the relative growth rate, photosynthetic activity, and spore germination of *Ulva pertusa* were determined under different ultraviolet-B (UV-B) radiation intensities. Results revealed that the growth of *U. pertusa* was inhibited by UV-B and that the inhibition was strengthened along with increase in UV-B radiation intensity. Spore germination was also influenced, as indicated by the significant inhibition effect of 4 kJ/m² UV-B. In addition, photosynthetic activity (F_v/F_m , Y_I , Y_{II}) decreased with prolonged treatment. Compared with photosystem I, photosystem II was more sensitive to environmental stress caused by UV-B. This study provides a theoretical basis for the possible influences of UV-B on other intertidal organisms or ecosystems.

(本文编辑: 刘珊珊 张培新)