
* 论文与研究报告 *

紫外光对有毒甲藻塔玛亚历山大藻的生态学效应*

齐雨藻 黄长江 应浙鸿 钱 锋

(暨南大学水生生物研究所, 广州 510632)

提要 对1991年分离自南海大鹏湾海域的塔玛亚历山大藻单克隆培养株在不同光照条件、辐射强度(9.5, 5.9W/m²) (辐射剂量为: 95, 190, 380, 760, 1520 J/m²)和营养盐(N, P)浓度下, 进行紫外辐射敏感性的研究。结果表明, 紫外辐射可以导致细胞变形、增大和死亡。不论在什么条件下, 低剂量的紫外辐射(95J/m²)就能使该藻的存活率和生长率大幅下降。此后, 随着辐射剂量的增加, 虽然存活率和生长率继续下降, 但下降幅度渐缓。充足的营养盐和辐射处理后的连续光照对藻群的恢复有益, 但在缺氮和缺磷条件下培养的藻群, 可能由于生理活性减弱而导致对紫外辐射敏感性的迟钝。辐射强度对该藻的紫外辐射敏感性的影响十分显著, 而且与辐射剂量具有明显的双重效应。

关键词 甲藻 紫外辐射 塔玛亚历山大藻 生理 生态

甲藻塔玛亚历山大藻是一种世界广布种, 也是一种常见的赤潮原因种。为此, 无论是海洋浮游植物生态学者, 还是赤潮科学工作者都对其十分关注, 一直是人们研究的一个热点(Anderson, 1980)。但目前还无关于紫外辐射对其生态效应的研究报道。本研究报道在不同光照、辐射强度和营养盐浓度等条件下, 紫外辐射对该藻生长和存活的影响, 以探讨自然界中不断增强的紫外辐射对藻类, 乃至整个浮游植物界可能产生的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)系1991年分离自南海大鹏湾海域的单克隆藻株, 藻种编号为DBAT01。藻种培养条件: 温度在20±1℃, 盐度约31—33, 光照度为5000lx, 光周期L:D=12:12。培养液根据实验目的的不同分为3种: (1)光暗实验和辐射强度实验: 藻种培养液为用大鹏湾盐田水域的沙滤海水, 参照Guillard等(1962)的配方配制而成的加富f/2海水培养基(NaNO₃, 75mg/L; NaH₂PO₄·H₂O, 5mg/L), 不包括硅盐。(2)氮实验: 缺氮实验用的培养液为用远洋(5°48'N, 118°E, 水深1500m)海水配制成的加富f/2, 但不添加NaNO₃; NaNO₃添加量为加富f/2一半的培养液, 简称为N/2。(3)磷实验: 缺磷实验用的培养液配制方法与缺氮培养液的相同,

*国家自然科学基金资助项目, 9389008号。齐雨藻, 男, 出生于1933年1月, 教授。

收稿日期: 1996年4月3日, 接受日期: 1996年10月14日。

但不添加 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 添加量为加富 $f/2$ 一半的培养液, 简称为 $P/2$ 。

1.2 紫外辐射处理

取处于对数期的藻种培养液(转接入以上所述各实验液 5—6d 后的), 经适当稀释后, 在 4×6 的培养板上的各小孔中滴入 1.5ml 该液, 使每孔的细胞数为 10—20cell。将培养板置于紫外光管正中下方 20 cm(辐射强度为 $9.5\text{W}/\text{m}^2$) 或 30 cm 处(辐射强度为 $5.9\text{W}/\text{m}^2$) 进行辐射处理。培养板共有 6 排: 一排对照, 5 排辐射处理; 每排为一剂量组, 每组有 4 个平行。在辐射一排时, 用平板遮蔽其它排, 并通风去除紫外辐射产生的臭氧。紫外辐射时间随辐射剂量和距离的不同而不同, 见表 1。

表 1 在不同紫外光辐射距离下的辐射剂量与辐射时间

Tab.1 UV radiative doses and time under different radiative distances

辐射剂量 (J/m^2)	辐射时间(s)	
	20 cm	30 cm
0	0	0
95	10	16
190	20	32
380	40	64
760	80	128
1 520	160	256

1.3 实验设计

1.3.1 光暗实验 使用 $f/2$ 加富海水, 将藻经距离为 20 cm 的紫外光辐射处理后, 进行光或暗实验: 光实验时立即置于温度为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照度为 2 800 lx 的条件下进行 24h 连续光照处理, 然后在光周期为 $D:L=12:12$ 的条件下继续培养; 暗实验则在完全黑暗的条件下进行 24h 连续黑暗处理, 然后在光周期为 $L:D=12:12$ 下继续培养。

1.3.2 辐射强度实验 使用 $f/2$ 加富海水, 对藻的紫外光辐射距离分别为 20 cm 和 30 cm(表 1)。辐射处理后, 立即置于温度为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照度为 2 800 lx、光周期为 $L:D=12:12$ 的条件下进行培养。

1.3.3 氮、磷实验 使用缺氮和 $N/2$ 、缺磷和 $P/2$ 的 $f/2$ 培养液, 经 20 cm 的紫外辐射处理后, 立即进行培养, 培养条件同“1. 3. 2”。

1.4 计数与数据

辐射处理开始前和其后每天以全孔计数法(Stein, 1973)将游动细胞和沉底细胞(包括只能在孔底原处摆动的细胞)分开计数。在辐射第 7 天, 包括最大剂量组的藻群, 除了死亡细胞外, 其余的都已复苏, 且细胞开始分裂, 游动细胞数已接近或多于起始细胞数。为此, 实验在第 7 天结束。

在辐射处理后的第 4—5 天, 沉底细胞数即达到稳定, 所以本文的存活率和生长率都以第 5 天的为准。由于各孔的起始细胞数不尽相同, 存活率只能以相对存活率表示, 即将各对照组的平均存活率作为 100%, 然后将其相对游动细胞数去除同组实验中其余各孔的相对游动细胞数, 求得该孔的相对存活率。相对游动细胞数是将当天的该孔的实验游

动细胞数除以其起始细胞数。

为了消除同一辐射剂量下各实验组平均存活率大小不同的影响, 本文用同实验组两种不同实验条件下的平均存活率的差除以该两平均值的再平均值的百分比, 来比较同一辐射剂量下各实验组两种不同实验条件之间平均存活率差幅的相对大小(见表 2)。以 C_0 和 C_5 分别为起始和第 5 天的细胞数, 平均生长率 K 以 Stein (1973) 的公式求得:

$$K = \frac{\ln(C_5 / C_0)}{5}。$$

2 结果

2.1 细胞形态和致死效应

分别测定了 20 个处于对数生长期的正常细胞和 20 个经辐射处理 ($380\text{J} / \text{m}^2$) 并在光强为 $2800\text{l}x$ 、光周期为 $L : D = 12 : 12$ 、温度为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 的条件下正常培养 48h 后获得的畸形细胞。结果表明正常细胞的平均长度为 $13\mu\text{m}$ 、宽 $12\mu\text{m}$, 长宽比为 $1.08 : 1$; 畸形细胞的平均长度为 $20\mu\text{m}$ 、宽 $16\mu\text{m}$, 长宽比为 $1.25 : 1$ 。两者 T 检验的 $P < 0.001$, 说明紫外辐射造成塔玛亚历山大藻细胞形态的改变是显著的。

在遭受辐射后, 即有部分细胞发生畸形, 并沉于底部。沉底细胞数一般在 1—2d 内达到最大。其后部分沉底细胞又会恢复活动能力, 重新成为游动细胞。一般情况下, 在辐射处理后的第 4—5 天沉底细胞数即达到稳定。这部分沉底细胞不能再恢复活动能力, 并在第 10 天左右开始分解。

2.2 光暗实验结果

结果表明, 在紫外辐射剂量仅从 0 上升至 $95\text{J} / \text{m}^2$ 时, 光暗实验的平均存活率就分别下降了 43.7% 和 39.3%。此后, 随着剂量的增大, 两实验的存活率都继续下降, 但下降趋势明显越来越缓(图 1)。从光、暗实验平均存活率曲线的变动趋势来看, 两者之间并无明显差异。对照组中连续光照的存活率比连续黑暗的高了 30.5%(表 2), 这表明光照条件对藻细胞的生长与繁殖极为重要。但辐射剂量从 95 至 $380\text{J} / \text{m}^2$ 时, 光、暗实验之间存活率的差幅反比对照组的小, 只有当辐射剂量等于和大于 $760\text{J} / \text{m}^2$ 时, 才比对照组的高(表 2)。和存活率一样, 光、暗实验的生长率都随着辐射剂量的增加而降低(图 1)。同时, 其走势也是开始时的斜率最大, 随后渐缓。在所有辐射剂量, 光实验的生长率都明显高于暗实验的, 而且光、暗两曲线的差幅有随着辐射剂量的增加而扩大的趋势。这说明, 藻群受到的辐射伤害越大, 充足的阳光对藻群的复苏和生长的促进作用可能表现的越明显。

2.3 辐射强度实验结果

辐射强度实验存活率曲线的走势与光暗实验的大致相同, 但两种强度不一样的存活率之间的差异随着辐射剂量的增加而变大的趋势十分明显(图 2)。在辐射剂量小于或等于 $400\text{J} / \text{m}^2$ 时, 两者之间差别较小, 但在辐射剂量大于或等于 $760\text{J} / \text{m}^2$ 时, 辐射强度低 ($30\text{cm} : 5.9\text{W} / \text{m}^2$) 的平均存活率比辐射强度高 ($20\text{cm} : 9.5\text{W} / \text{m}^2$) 的存活率明显较高。从图 2 和表 2 可以看出, 两种辐射强度之间的存活率和生长率的差幅随着辐射剂量的增加而扩大的趋势十分明显。这说明两个问题: 一是在辐射剂量相同时, 辐射强度越大, 其存活率和生长率则越小, 即藻类细胞所受的伤害越大, 复苏也越缓慢; 二是辐射

表 2 不同辐射剂量下各实验组两种实验条件之间平均存活率的相对差幅(计算方法见 1.4)

Tab.2 Relative differences of averaged survival rates between both different conditions in each experiment under different UV radiative doses (calculating method: see 1.4)

辐射剂量 (J/m^2)	平均存活率差幅(%)			
	光照 > 黑暗	30cm > 20cm	N / 2 > 缺氮	P / 2 > 缺磷
0	30.5	10.7	44.1	34.0
95	21.5	14.7	25.9	32.3
190	23.5	22.2	18.6	11.2
380	14.7	23.6	35.6	20.9
760	48.4	31.9	34.5	20.3
1520	52.2	73.7	66.2	58.1

强度和剂量具有明显的双重叠加效应, 即随着辐射剂量的增加, 辐射强度越大对藻类所产生的伤害效应随之增大。

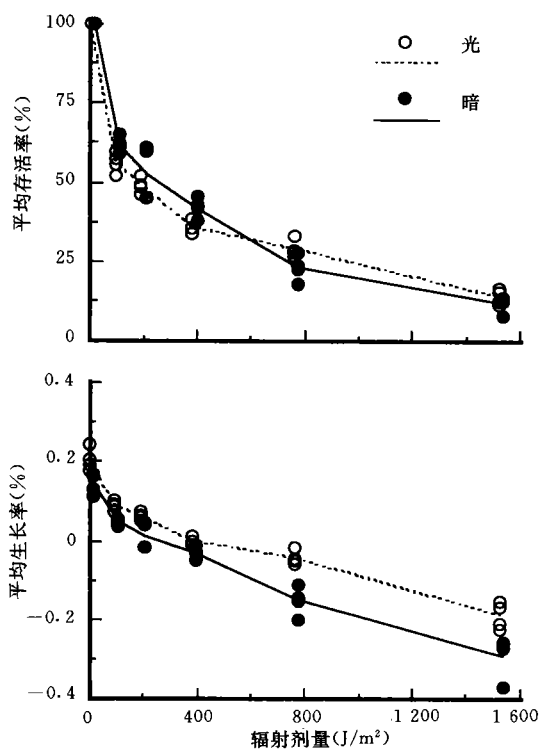


图 1 光暗对比实验中辐射剂量与存活率、生长率的关系

Fig.1 Relationship between UV radiative doses and averaged survival and growth rates of the *Alexandrium tamarense* in light dark experiment

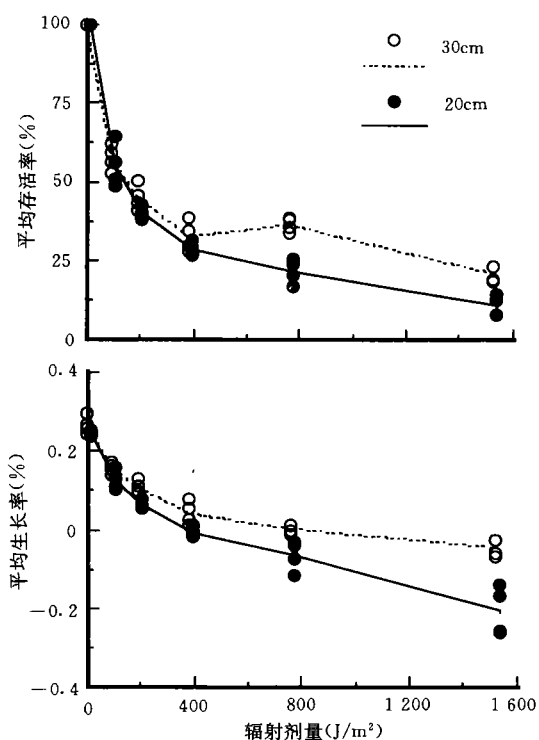


图 2 不同辐射强度(20cm: $9.5W/m^2$, 30cm: $5.9W/m^2$)对比实验中辐射剂量与存活率、生长率的关系

Fig.2 Relationship between UV radiative doses and averaged survival and growth rates of the *Alexandrium tamarense* under different radiative intensities ($9.5W/m^2$, $5.9W/m^2$)

2.4 氮、磷实验结果

一般来说, 氮磷实验平均存活率和生长率曲线的走势与光暗实验的大致相同(图1; 图3a, b), 但辐射剂量从0到95J/m²时, 存活率的下降幅要比光暗实验的小些, 其中磷实验的下降幅度只有25.2%—25.9%。低剂量时, 缺氮、缺磷实验组的平均存活率明显要比N/2, P/2的高, 其中尤以190J/m²时的差幅最为显著, 如缺磷的平均存活率要比P/2的高19.3%(图3b)。但在1520J/m²时, 缺氮、缺磷条件下的存活率反而比N/2, P/2条件下的高。在辐射剂量小于1520J/m²时, 缺氮、缺磷与N/2, P/2之间平均存活率的相对差异都明显比对照组的小, 但1520J/m²时的却比对照组的大(见表2)。其中缺磷和P/2之间存活率的相对差值在760和1520J/m²时分别为20.3%和58.1%, 两个不同剂量的平均存活率相对差值相差近3倍之多。

氮实验中, 缺氮和N/2之间的平均生长率的差幅随着辐射剂量递增而加大的趋势比较明显(图3c)。但在磷实验中, 除了辐射剂量为1520J/m²的以外, 缺磷和P/2之间的平均生长率差异不太明显(图3d)。

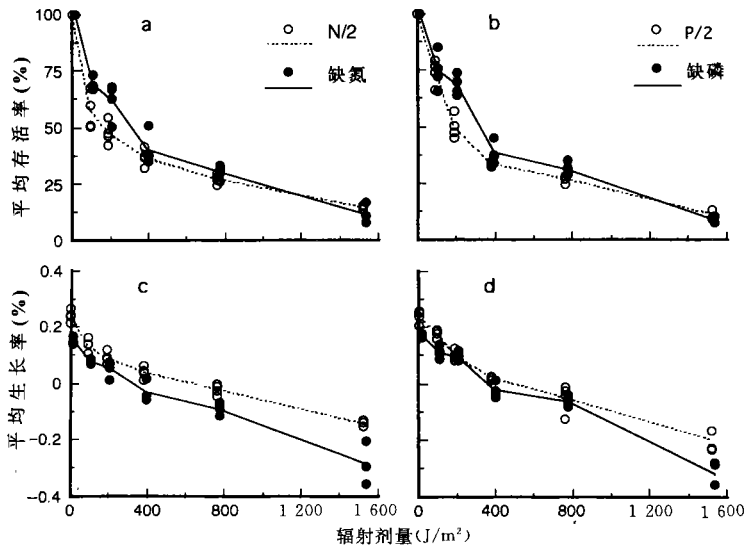


图3 缺氮与N/2(a,c)、缺磷与P/2(b,d)对比实验中辐射剂量与平均存活率、平均生长率的关系

Fig.3 Relationship between UV radiative doses and averaged survival and growth rates of the *Alexandrium tamarense* in the lack of nitrogen to the half nitrogen concentration (a, c), and the lack of phosphorus to the half phosphorus concentration (b, d) experiments

3 结论与讨论

本研究结果表明塔玛亚历山大藻对紫外辐射是比较敏感的, 那怕是较低剂量的紫外辐射都会导致其存活率的显著下降。由于个体的差异, 在经受紫外辐射后塔玛亚历山大藻会产生几种不同的反应: (1)无明显肉眼可见的伤害; (2)细胞活动能力大为减弱, 只能在水底缓慢游动; (3)丧失游动能力; 沉于水底, 这类细胞部分会恢复游动和繁殖能力, 部分则只能恢复活动能力; (4)沉于水底, 死亡。Dohler(1984)认为紫外辐射对DNA

的损伤是造成藻细胞死亡的主要原因。当然,随着辐射剂量的增加,沉底死亡和丧失繁殖能力的细胞数事实上也相应增加。

在对照组里,暗实验和缺氮、缺磷实验的存活率都明显比光实验和 N / 2, P / 2 的存活率低。这说明,光照和氮、磷对于该藻细胞的生长和繁殖都是非常重要的。其实这在藻类生理学中已是一个常识性的问题,无需多加说明。本研究结果说明的一个重要问题是,充足的阳光和营养盐不仅对藻类的生长繁殖有益,而且也应有助于藻细胞抵抗紫外辐射和细胞创伤恢复。在高辐射剂量 $1520\text{J}/\text{m}^2$ 时,光照、N / 2, P / 2 实验条件下的存活率与黑暗、缺氮、缺磷实验条件的存活率的相对差幅远远大于对照组的,就充分地说明了这个问题。但在低剂量时,为何其相对差幅反而小于对照组的呢?我们知道,对照组的藻细胞没有经过辐射处理,光照和较高浓度的营养盐培养条件能立即对其生长繁殖产生明显的促进作用。但经过辐射处理后的初期阶段,许多受创细胞处于修复期,光照和较高浓度的营养盐可能无法立即对其生长繁殖产生积极的促进作用,而存活率的计算又是以藻种群细胞数在 5d 内的变化为基准的。同时由于在低剂量辐射时,死亡和丧失繁殖能力的细胞较少,而损伤的细胞较多,因而紫外辐射对藻种群整体造成的有效修复期间的缩短所产生的负作用是完全有可能大于光和营养盐对藻种群修复所产生的效果的。

氮和磷是藻细胞的重要营养物质。郑磊等(1997)¹⁾和 Anderson(1980)的研究证实,营养盐(氮)缺乏是诱发塔玛亚历山大藻形成孢囊的重要条件。为此,当营养盐缺乏时,塔玛亚历山大藻的生命活动会相对减弱而自我保护功能将得到相对地加强。在氮实验的对照组里,缺氮条件下的平均存活率比 N / 2 的低 44.1%,为本研究 4 组实验中差幅最大的(表 2)。这说明,某种重要营养盐的缺乏会使藻细胞的生长繁殖活动减弱,生理活性降低。但低辐射剂量时,缺氮或缺磷条件下的存活率明显高于 N / 2 或 P / 2 条件下的存活率的原因,可能是在缺氮或缺磷的条件下,藻细胞的生理活性减弱而自我保护机能提高,从而增强了细胞对紫外辐射的抵抗力的结果。也就是说 N / 2 或 P / 2 条件下的藻细胞对紫外辐射的敏感性可能明显高于缺氮或缺磷条件下的藻细胞。但随着辐射剂量的增加,这种环境恶劣而被激发出来的自身抵抗力也会慢慢失去其效力。为此,随着辐射剂量的增加,其存活率之间的差异也渐渐缩小,甚至因有利环境条件对藻群修复的促进作用而发生逆转。

由此可见,处于不同生长时期的细胞,即刚分裂的、成熟的或衰老的细胞之间的生理差异,也可能造成其彼此之间对紫外辐射敏感性的差异。这就是说刚分裂的或新生的细胞可能对紫外辐射敏感些,而成熟的或衰老的细胞则可能对紫外辐射具有较强的抵抗力。本研究所用的实验材料都是处于指数生长期的藻群,刚分裂的和新生的细胞所占比例应较高。为此,当辐射剂量从 0 上升到 $95\text{J}/\text{m}^2$ 时,细胞存活率就大幅下降。当辐射剂量继续增加时,由于刚分裂的和新生的细胞所占比例下降,存活率的下降幅度也随之趋缓。虽然我们以此可以较好地解释本研究中有存活率曲线的走势问题,但这种由细胞生理活性差异产生的对紫外辐射敏感性差异的本质所在,尚待进一步深入研究。

1) 郑磊等, 1997, 有毒赤潮甲藻塔玛亚历山大藻孢囊生理特征, 海洋与湖沼。(待刊)。

辐射强度对藻细胞的紫外辐射敏感性的影响是非常明显的, 它和辐射剂量的双重效应表明, 辐射强度和剂量的同时轻微增加就可能较大程度地增强紫外辐射的杀伤力。因此, 大气臭氧层受到破坏而导致的紫外辐射强度增加对海洋浮游植物, 乃至整个初级生产力都可能产生巨大的不良影响(Dohler, 1984; Karentz et al., 1990; Sivalingam et al., 1990), 如 Smith等(1992)认为, 南极水域的初级生产力至少有6%—12%的损失是由紫外辐射引起的。

参 考 文 献

- Anderson, S. M., 1980, *J. Phycol.*, **16**: 166—172.
Dohler, G., 1984, *Mar. Biol.*, **83**: 247—253.
Guillard, R. R. L. and Ryther, J. H., 1962, *J. Microbiol.*, **8**: 229—239.
Karentz, D., Lutze, L. H., 1990, *Limnol Oceanogr.*, **35**(3): 549—561.
Sivalingam, P. M. and Nisizawa, K., 1990, *Jpn. J. Phycol.*, **38**: 365—370.
Smith, R. C. et al., 1992, *Science*, **255**: 952—959.
Stein, J. R., 1973, *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods & Growth Measurements*, Cambridge Univ. Press (London), pp. 289—312.

THE ECOLOGICAL EFFECTS OF UV RADIATION ON A TOXIC DINOFLAGELLATE *ALEXANDRIUM TAMARENSE*

Qi Yuzao, Huang Changjiang, Ying Zhehong, Qian Feng

(Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract A toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* collected in 1991, from Dapeng Bay in the South China Sea was studied to assess its sensitiveness to different UV radiative doses (0, 95, 190, 380, 760 and 1 520 J / m²) under four different pairs of culture conditions, i. e., continuing light for 24h to continuing dark for 24h, different UV radiative intensities of 5.9W / m² and 9.5W / m², lack of nitrogen to half nitrogen concentration (6.17mg / L) and lack of phosphorus to half phosphorus concentration (646μg / L).

The results showed that UV radiation changed the cell morphology, increased the cell size and even killed them. The averaged length and width of the distorted cells were 1.54 and 1.33 times more than the normal cells. Under all four experiments, a low dose of UV (95J / m²) decreased greatly the survival and growth rates of *A. tamarense*. Although the survival and growth rates continued to decline as UV dose increased, the decrease rate became smaller and smaller. Light radiation and full supply of nutrients seemed to be good for the recuperation of the population exposed to UV radiation. However, the population pre-cultured under lack of nutrients (N or P) became insensitive to UV radiation probably due to the declined physiological activity. Higher UV doses significantly reduced the survival and growth rates, and effects were doubled with the increase of UV dose.

Key words Dinoflagellate UV radiation *Alexandrium tamarense* Physiology Ecology