

## 人工模拟 UV-B 辐射对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 生长的影响\*

谢纯刚<sup>1,2</sup>, 张运林<sup>1\*\*</sup>, 朱广伟<sup>1</sup>, 何开跃<sup>2</sup>, 冯龙庆<sup>1</sup>, 蔡琳琳<sup>1</sup>

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室太湖湖泊生态系统研究站, 南京 210008)

(2: 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037)

**摘要:** 选择我国蓝藻水华的优势藻类铜绿微囊藻, 进行人工模拟 UV-B 辐射连续 24h 照射实验, 测定铜绿微囊藻生物量、生理及超微结构指标, 探讨湖泊特别是高原湖泊藻类生长对 UV-B 辐射增强的胁迫响应. 结果表明, 当辐射时间达到 1h 时, 铜绿微囊藻便开始陆续死亡, 但蛋白质含量增加, 且叶绿素 a 浓度保持稳定; 当辐射时间少于 4h 时, 细胞内超氧化物歧化酶 (SOD) 始终保持较高活性, 细胞膜保持基本完整, 细胞内类囊体和蓝藻素颗粒数目保持稳定; 当辐射时间超过 4h 后, 微囊藻叶绿素 a 浓度和 SOD 酶活性等开始快速下降. 研究表明, 连续辐射 4h 是铜绿微囊藻可抗逆的极限.

**关键词:** 铜绿微囊藻; UV-B 辐射; 超微结构; 生物量; 酶

## Effect on the growth of *Microcystis aeruginosa* by the simulated continuous UV-B radiation

XIE Chungang<sup>1,2</sup>, ZHANG Yunlin<sup>1</sup>, ZHU Guangwei<sup>1</sup>, HE Kaiyue<sup>2</sup>, FENG Longqing<sup>1</sup> & CAI Linlin<sup>1</sup>

(1: Taihu Laboratory for Lake Ecosystem Research, State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China)

(2: College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, P. R. China)

**Abstract:** An experiment that *Microcystis aeruginosa* was exposed to short-term (0–24h) simulated UV-B radiation was carried out to determine the effect of increased UV-B radiation on the phytoplankton growth in lakes, especially lakes in the mountain and plateau. By measuring the biomass, physiological and ultrastructural indices, the response of *M. aeruginosa* to UV-B radiation was analyzed. When the UV-B radiation exposure time reached to 1h, the *M. aeruginosa* began to die, but the protein concentration increased and chlorophyll-a concentration remained stable. When the UV-B radiation exposure time was less than 4h, the activity of superoxide dismutase (SOD) enzyme remained high, the cell membrane was in good condition, and the number of thylakoids and cyanophycin granules remained stable. When the UV-B radiation exposure time was more than 4h, chlorophyll-a concentration and the activity of SOD enzyme of *M. aeruginosa* started to rapidly drop. The UV-B continuous radiation exposure time reaching to 4h was the maximum resistance of *M. aeruginosa*.

**Keywords:** *Microcystis aeruginosa*; UV-B radiation; ultrastructure; biomass; enzyme

当今, 航空、航天飞行器数量的急剧增加及氯氟烃 (CFCs) 等的大量应用, 使排放到大气中的氯氟烃和其它氮化物急剧增加, 这些化合物长期存留在大气中并催化性地破坏平流层中的臭氧 (O<sub>3</sub>), 结果导致到达地面紫外线辐射 (UV-B) 剧增<sup>[1-3]</sup>. 根据联合国环境署 (United Nations Environment Programme, UNEP) 对 O<sub>3</sub> 减少与环境变化的评估报告: 以 1980 年为基准, 1997–2000 年间南半球中纬度地区臭氧层每年减少 6%, 北半

\* 国家自然科学基金项目 (40601099, 40971252, 40825004)、水体污染控制与治理科技重大专项项目 (2009ZX07101–013) 和中国科学院知识创新工程项目 (KZCX2–YW–QN312) 联合资助. 2010–06–07 收稿; 2010–07–16 收修改稿. 谢纯刚, 男, 1984 年生, 硕士; E-mail: Zhelin311300@126.com.

\*\* 通讯作者; E-mail: ylzhang@niglas.ac.cn.

球中纬度地区冬春季臭氧层减少4%,夏秋季减少2%,全球年平均减少约3%<sup>[4]</sup>.如果对CFCs的排放量不加限制,到2075年,平流层的O<sub>3</sub>将比1985年减少40%<sup>[5]</sup>.紫外辐射的波长范围为200-400nm,分为UV-C(200-280nm),UV-B(280-320nm)和UV-A(320-400nm).UV-C辐射就是通常所说的杀菌紫外线,它对生物有强烈影响,但能被极少量的臭氧层完全吸收,即便臭氧层厚度减少90%,UV-C辐射也不大可能到达地表<sup>[6]</sup>.UV-A辐射很少被臭氧吸收,但它对生物无杀伤作用,且可促进植物生长.从生态学角度分析,臭氧层破坏的主要生态效应就是到达地表的UV-B辐射增强,对动植物生长和人体健康带来不良影响.臭氧层厚度每减少1%,到达地表的UV-B辐射增强2%.2006年9月29日下午1点33分在海拔3568m的云南碧塔海水面上实测到UV-B辐射312、316、320nm处光照强度分别179.87、246.84、305.98mW/m<sup>2</sup>,如若在夏天正午时分,UV-B辐射强度将会更大.

许多原位研究表明,增强的UV-B辐射可破坏植物细胞内的脱氧核糖核酸(DNA),改变遗传信息及破坏蛋白质,进而影响到植物一系列的分子生物学与生理生化过程<sup>[7]</sup>.蓝藻是地球上最早出现的能够进行光合作用的单细胞原核生物,有着重要的生态地位、广泛的分布、独特的代谢能力和潜在的经济价值,在地球水生生态系统的物质循环和能量流动中起着不可低估的作用<sup>[8]</sup>.近年来UV-B辐射对藻类生长的研究主要围绕海洋及国外一些高山湖泊进行<sup>[9-11]</sup>,而在我国很少涉及.我国拥有青藏高原和云贵高原两个高原高山湖泊集中分布区,海拔高度从1000-6000m不等<sup>[12]</sup>,这些湖泊势必会受到增强的UV-B辐射的影响.藻类作为湖泊生态系统的初级生产者,为浮游动物和鱼类提供食物和能量,UV-B辐射的增强会对高原高山湖泊藻类生长产生如何影响呢?微囊藻广泛分布于我国各淡水湖泊中,是我国水华发生的优势藻类,也是高山、高原湖泊水华发生的主要藻类.本文选择铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)进行人工模拟UV-B连续辐射实验,探讨增强的UV-B辐射对铜绿微囊藻生长影响及对高原、高山湖泊生态系统的可能影响.

## 1 材料和方法

### 1.1 藻种和培养基配方

实验所用的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)从中国科学院水生生物研究所购得.藻种用BG-11培养基在光照培养箱中进行培养,温度控制在25℃,弱光照处理,光暗比12h:12h.根据已有研究资料,铜绿微囊藻适于培养在M-11培养基中<sup>[13]</sup>,所以本实验采用M-11培养基培养,藻种培养2周后进行实验.M-11培养基配方为NaNO<sub>3</sub>:100mg/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:10mg/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O:75mg/L, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O:40mg/L, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:20mg/L, 柠檬酸铁(Fe·citrate·xH<sub>2</sub>O):6mg/L, Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O:1mg/L, pH为8.0.

### 1.2 实验设计

选用2L烧杯作为容器,每烧杯配2L M-11培养基,121℃灭菌20min,冷却后,在超净工作台上进行接种,每烧杯接种200ml已培养的纯种铜绿微囊藻,同时放进一粒磁力转子,用保鲜膜封好,然后放进光照培养箱培养;培养箱只开一盏日光灯,光暗比12h:12h,温度25℃,培养2周后,进行UV-B紫外辐射实验,实验组3个重复,对照组不设重复.本次实验采用美国Spectronics(SP)公司生产的型号为EA-140C/12的UV-B灯,其配置是一支4W自滤色的紫外线灯管,灯产生UV-B辐射峰值在312nm.

光照培养箱分上、下两层,在中间挡板处同一高度悬挂3盏UV-B紫外灯,同时在挡板上方铺上遮光的厚纸板,防止紫外线的穿过.在底部也铺上纸板,方便放置磁力搅拌器,搅拌器的排布和紫外灯一致,在搅拌器上放置实验用的烧杯,进行连续UV-B辐射照射.其中在辐射0h、0.5h、1h、2h、4h、8h、12h、24h时采集一次藻液,每次采集90ml藻液,采集工作在超净工作台上进行.每次采样后,用厚纸板将磁力搅拌器垫高,要求始终保持烧杯中藻液面与UV-B灯之间的距离为12cm.

使用德国TriOS-8180光谱仪测定了在距离UV-B灯12cm处的光照强度,同时于2006年9月29日13:33和2007年10月25日12:47分别实测了云南省洱海(海拔1954m)和碧塔海(海拔3568m)水面的光照强度(图1),UV-B灯波长312nm处光强最大,为268.59mW/m<sup>2</sup>.

### 1.3 样品处理

1.3.1 生物量测定 采集藻样5ml经过300目纱布过滤,用超纯水稀释5倍混匀,使用流式细胞仪测定藻样细胞数目;采集藻样10ml用Whatman GF/F玻璃纤维膜过滤,滤膜在-20℃下冷冻保存,采用热乙醇提取

法<sup>[14]</sup>测定叶绿素 a 含量(Chl. a).

1.3.2 酶活性测定 采集藻样 50ml 用已称重的 Whatman GF/F 滤膜过滤,充分抽滤后的滤膜在万分之一天平上称重、记录,然后将滤膜在  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中冷冻保存. 实验时加少量石英砂和定量的  $0.05\text{mol/L}$  ( $\text{pH}=7.0$ ) 的磷酸缓冲液冰浴上充分研磨,接着在高速冷冻离心机中离心  $15\text{min}$ , 转速  $10000\text{r/min}$ , 最后收集的上清液即为酶液,  $2^{\circ}\text{C}$  冷藏备用. 蛋白质浓度的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[15]</sup>; 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用 NBT 光化学还原法<sup>[16]</sup>; 酯酶活性测定<sup>[17]</sup>: 藻样用 300 目网布过滤后,再用 FDA (Fluorescein diacetate, Sigma, F-7378) 对藻样进行染色,然后上流式细胞仪 (FACSVantage SE, Becton Dickinson, USA) 进行检测. FDA 用丙酮(分析纯)稀释到  $1\text{mmol/L}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  保存. 染色条件为: FDA 浓度为  $25\mu\text{mol/L}$ , 染色  $8\text{min}$ .

1.3.3 超微结构测定 取  $10\text{ml}$  藻样  $4000\text{r/min}$  离心,沉淀物去除上清液后立刻放入  $4\%$  戊二醛溶液固定,  $20\text{min}$  后  $10000\text{转/min}$  离心,沉淀物加磷酸缓冲液清洗,去上清液,重复 2 次,  $2\%$  锇酸固定至完全黑透;然后同法用磷酸缓冲液洗涤 3 次,再用  $30\%$ 、 $50\%$ 、 $70\%$ 、 $90\%$  浓度的丙酮逐级脱水,  $100\%$  丙酮脱水两次, 每级每次  $30\text{min}$ , 接着用包埋剂逐级渗透、包埋,于恒温箱中  $37^{\circ}\text{C}$ – $45^{\circ}\text{C}$ – $60^{\circ}\text{C}$  温度段分别过夜聚合;最后用瑞典 LKB-V 型超薄切片机进行超薄切片,  $50\text{--}70\text{nm}$  厚度, 铀铅染色, 于日立 H-600 型透射电子显微镜观察<sup>[18]</sup>.

#### 1.4 统计分析

数据分析运用 SPSS11.0 软件进行,不同 UV-B 辐射能量处理间各分析参数差异的显著性分析采用 One-way ANOVA; 回归方程拟合采用 Excel 软件,先画散点图,最后选择拟合度最大的趋势线而成.

## 2 结果与分析

### 2.1 生物量的变化

2.1.1 叶绿素 a 浓度的变化 实验时,通过肉眼观察,  $2\text{L}$  烧杯中的铜绿微囊藻藻液在人工模拟 UV-B 辐射下,前  $2\text{h}$  颜色不变,辐射进行到  $4\text{h}$  时,就可看出实验组和对照组之间的差别,颜色由先前的浓绿开始变淡泛黄;继续辐射,到  $12\text{h}$  时藻液开始泛白,但依旧可见淡绿色,辐射进行到  $24\text{h}$  时,藻液基本泛白. Chl. a 浓度在辐射前  $4\text{h}$  基本保持稳定,与初始值相比浓度下降了  $15.5\%$ ,  $4\text{h}$  后 Chl. a 浓度急速下降, Chl. a 浓度由初始值  $262.9\mu\text{g/L}$  降低到  $16.1\mu\text{g/L}$ , 下降了  $94.0\%$  (图 2a). 辐射时间对 Chl. a 浓度的影响显著 ( $P < 0.005$ ), 辐射  $4\text{h}$  差异开始显著. 同时对 3 平行样平均 Chl. a 浓度随辐射时间变化进行回归拟合,存在极显著负相关,拟合方程为:  $y = 0.23x^2 - 15.83x + 262.2$  ( $r^2 = 0.98$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 8$ ), 表明微囊藻随着 UV-B 辐射时间的增加, 叶绿素 a 浓度呈现显著的一元二次方程下降.

2.1.2 细胞数量的变化 流式细胞仪测量的细胞数指的是活细胞的数目. 铜绿微囊藻细胞数量的变化趋势大致和 Chl. a 相同,只是细胞数量下降时间提前(图 2b). 辐射  $1\text{h}$  后细胞数量便快速下降,辐射进行到  $8\text{h}$ , 下降幅度开始减缓; UV-B 辐射  $0.5\text{h}$ , 细胞个数不但没有降低,反而有所增加,说明短时间的辐射对藻类生长有促进作用,长时间辐射抑制其生长,甚至杀死藻体. 辐射时间对微囊藻细胞数量影响显著 ( $P < 0.005$ ), 辐射  $2\text{h}$  开始差异显著. 对 3 平行样平均细胞数量变化进行回归方程拟合分析,发现其遵循一定的规律,符合一元二次方程,拟合方程式为:  $y = 9.93x^2 - 343.8x + 2991.8$  ( $r^2 = 0.86$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 8$ ).

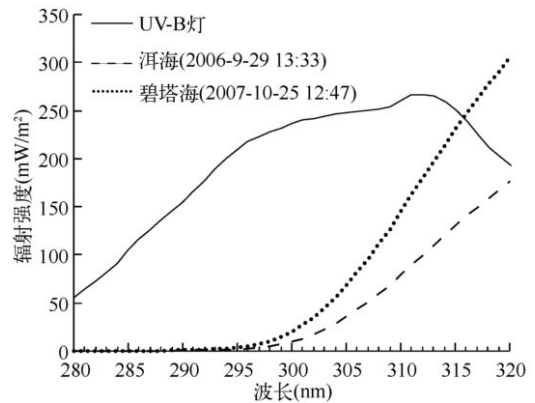


图1 模拟紫外灯及云贵高原洱海、碧塔海秋季原位 UV-B 辐射光谱

Fig. 1 UV-B spectra of the UV lamp used in the laboratory and of natural solar radiation with a clear sky in September in Lake Erhai and in October in Lake Bitahai of Yungui Plateau

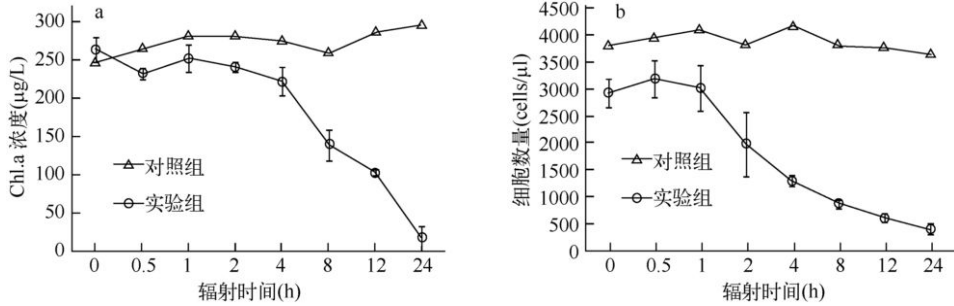


图2 UV-B 辐射对铜绿微囊藻 Chl. a 含量(a)和细胞数量(b)的影响

Fig. 2 Effect of UV-B radiation on concentration of Chl. a(a) and the number(b) of *M. aeruginosa*

2.2 酶活性变化

2.2.1 酯酶活性的变化 酯酶活性变化有 2 个阶段,第一阶段辐射 0.5h 后活性迅速下降,数值从 23.97µg/L 直线下降到 10.93µg/L,下降了 54.4%,之后到 1h 保持稳定;第二阶段是辐射 1h 后,活性又开始较快下降,数值由 10.97µg/L 下降到 5.49µg/L,下降了 49.9%,辐射到 8h 后活性维持稳定不变(图 3a). UV-B 辐射时间对酯酶活性的影响显著( $P < 0.005$ ),辐射 4h 开始差异显著.

2.2.2 SOD 酶活性的变化 超氧化物歧化酶 SOD 活性是判断植物抗逆性强弱的一个重要指标. SOD 酶活性在 UV-B 辐射前 4h 有一定波动,但是幅度不大,活性最大值为 0.021,最小值为 0.017,变化范围在 0 - 19.0% 间,说明 4h 持续的 UV-B 辐射在铜绿微囊藻的耐逆性范围之内,表现其较强的抗紫外辐射能力;持续 UV-B 辐射超过 4h, SOD 酶活性直线下下降,数值由 0.021 降低到 0.0027,下降了 87.0%;辐射 8h 之后 SOD 酶活性维持稳定,变化不大(图 3b). 持续辐射时间对于 SOD 酶活性影响显著( $P < 0.005$ ),辐射 8h 开始差异显著. 通过对 SOD 酶活性下降趋势进行回归方程模拟,发现其符合一元二次方程,方程式为: $y = 0.00005x^2 - 0.00213x + 0.021$  ( $r^2 = 0.84, P < 0.01, n = 8$ ).

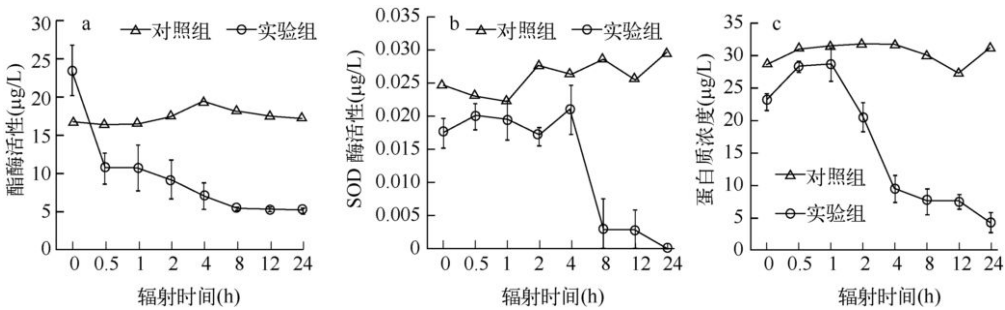


图3 UV-B 辐射对铜绿微囊藻酯酶活性(a)、SOD 酶活性(b)和蛋白质浓度(c)的影响

Fig. 3 Effect of UV-B radiation on esterase activity(a), SOD enzyme activity(b) and concentration of protein(c) of *M. aeruginosa*

2.2.3 蛋白质浓度的变化 持续 UV-B 辐射 1h,蛋白质的浓度升高,表明短时间 UV-B 辐射可促进铜绿微囊藻蛋白质的合成;辐射进行到 4h,蛋白质浓度直线下下降,数值由 28.68µg/L 降低到 9.58µg/L,下降了 66.6%,表明 1h 是蛋白质浓度变化的转折点,超过 1h 的辐射显著影响蛋白质的浓度;辐射 4h 之后,浓度变化趋缓,辐射 24h 后达到最小值. 辐射时间对蛋白质浓度的影响显著( $P < 0.005$ ),辐射 2h 开始差异显著(图 3c). 通过对蛋白质浓度下降趋势进行回归方程拟合,发现其符合一元三次方程,方程式为: $y = -0.009x^3 + 0.417x^2 - 5.375x + 28.57$  ( $r^2 = 0.89, P < 0.005, n = 8$ ).

### 2.3 超微结构

参照胡鸿钧等 2003 年出版的《中国淡水藻类》一书中的蓝藻超微结构模式图<sup>[19]</sup>,发现其含有类囊体、脂质体、蓝藻素颗粒、多层细胞壁、胞间连丝、质膜、核质、藻胆体及鞘等。铜绿微囊藻细胞直径为 2-3 $\mu\text{m}$ ;未经 UV-B 辐射的正常铜绿微囊藻细胞,细胞膜明显且具有连续性,细胞内基质分布均匀,细胞器如类囊体、脂质体等均匀分布,其中蓝藻素颗粒大且多,细胞内透明区域小且少;在 UV-B 辐射胁迫下,辐射达到 0.5h 时,微囊藻细胞结构完整,基质分布均匀,细胞膜完整且连续,未见破坏;辐射达到 1h 时,细胞基质分布依旧比较均匀,细胞膜也基本完整连续,但是细胞内透明区域开始变大增多;辐射达到 2h 时,细胞膜连续完整,但是基质向中心收缩,细胞膜周围出现连续较大的透明区域;当辐射达到 4h 时,细胞膜出现断裂且变模糊,细胞内透明区域进一步增大增多;当辐射达到 8h 时,细胞内类囊体和蓝藻素颗粒开始明显减少,细胞膜进一步断裂分离,细胞内基质分布松散,细胞内部结构紊乱;当辐射达到 12h 时,细胞膜进一步断裂分离,细胞内部结构进一步紊乱;当辐射达到 24h 时,细胞结构完全紊乱,细胞破裂死亡(图 4)。

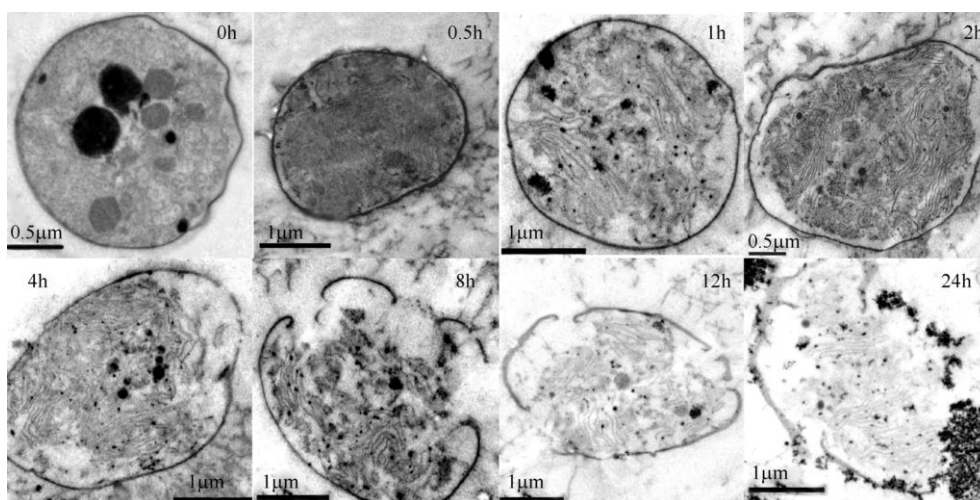


图 4 UV-B 不同能量时间下铜绿微囊藻的超微结构变化

Fig. 4 Changes of ultrastructure in *M. aeruginosa* on different times of UV-B radiation

### 3 讨论

实验时现场观察发现,烧杯中的微囊藻藻液在人工模拟 UV-B 连续辐射下,辐射 2h 时藻液颜色不变,辐射达到 4h 时,才可看出实验组和对照组之间的差别,颜色由先前的浓绿开始变淡泛黄;继续辐射,时间达到 12h 时藻液开始泛白,但依旧可见淡绿色,辐射时间达到 24h 时,藻液基本泛白。Chl. a 浓度和超微结构变化基本与外部观察相一致,在辐射时间达到 4h 前,Chl. a 浓度基本不变,当辐射时间超过 4h 后,细胞内蓝藻素颗粒开始减少,Chl. a 浓度下降,色素物质分解,从而降低藻类光合作用能力,此结果与薛林贵、黎峥等在其它藻类的研究相符<sup>[20-21]</sup>。流式细胞仪测定的活细胞数量显示在辐射时间达到 1h 时,细胞数量便开始快速下降,说明 UV-B 辐射达到 1h 时,抗性较弱的铜绿微囊藻细胞已经失去活性或者死亡,但是细胞内含有叶绿素等色素物质的蓝藻素颗粒并未减少或消失,表明色素物质相对于细胞活性来说具有较强的抗逆性,其对 UV-B 辐射的反应具有一定的滞后性,电镜结果与此相符。

蛋白质是生物有机体的重要组成部分,而且大多数酶也是蛋白质,所以蛋白质在各种生理活动中起着重要作用。蛋白质的最大吸收波长正好处于 UV-B 辐射波长范围内,因此蛋白质会受到 UV-B 辐射的影响。Santos 等<sup>[22]</sup>认为 UV-B 辐射使植物的蛋白质含量减少;Tevini 等<sup>[23]</sup>则认为 UV-B 辐射使植物的蛋白质含量增加;Vu 等<sup>[24]</sup>报道 UV-B 辐射使一些植物的蛋白质含量增加,而使另一些植物的蛋白质含量减少;本实验中蛋白质浓度在辐射时间达到 1h 前先升高,辐射时间超过 1h 后,蛋白质含量开始快速下降,此现象说明短

时间 UV-B 辐射可促进铜绿微囊藻蛋白质的合成,但较长时间的辐射便可明显抑制微囊藻蛋白质的合成. UV-B 胁迫下,酶的活性变化最为灵敏,酯酶活性从辐射一开始便快速下降;然而 SOD 酶活性有所不同,其反应类似于 Chl. a 浓度变化,在辐射时间达到 4h 前活性先上升,辐射时间超过 4h 后活性才开始显著下降,此研究结果与聂麟等<sup>[25]</sup>的研究结果相一致,也与 Poonam<sup>[26]</sup>等在其他藻类的研究结果相符合. SOD 酶能使  $O_2^-$  歧化生成  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,从而清除氧自由基对植物的损伤,保护微囊藻的正常生长,是藻体防御活性氧攻击的第一道防线.

此次人工模拟实验采用美国 Spectronics 公司生产的 UV-B 灯,在距灯 12cm 位置 312nm 波长处具有最大辐射光强,为  $268.59mW/m^2$ . 野外实地测量发现:2006 年 9 月 29 日 13:33 在海拔达到 1954m 的云南洱海水面测得 312nm 波长处辐射强度达到  $99.66mW/m^2$ ;2007 年 10 月 25 日 12:47 在海拔高度达到 3568m 的云南碧塔海水面测得波长 312nm 处辐射强度达到  $179.87mW/m^2$ ;两数值分别为 UV-B 灯辐射强度的 37.1% 和 67.0%. 在不考虑乌云等天气因素的影响下,我国普遍太阳紫外辐射强度最高值一天中出现在 12:00 附近,一年中出现在盛夏 7、8 月份<sup>[27-28]</sup>,由此可以推断在盛夏季节,正午的洱海、碧塔海水面紫外辐射强度肯定更加接近甚至超过 UV-B 灯最高辐射强度,事实上实测的碧塔海水面 UV-B 辐射范围内 318nm 辐射强度已超过 UV-B 灯强度(图 1),所以此次选用的 UV-B 灯进行的模拟实验结果在高山高原湖泊中具有一定的现实意义. 高原湖泊由于海拔较高,接受的 UV-B 辐射绝对量较大,一般海拔每增高 1000m,UV-B 辐射增加 10% - 20%<sup>[29]</sup>. 另外,高原湖泊由于受人类活动相对较小,溶解性物质浓度较低,UV-B 辐射穿透的深度较深,一般达几米甚至更深<sup>[30]</sup>,如 2005 年测得抚仙湖 UV-B 辐射穿透深度高达 9m<sup>[31]</sup>,所以在高山、高原湖泊中藻类生长容易受到 UV-B 辐射的影响,尤其是一些浮于水面而不具备下沉能力的藻类,其生长受 UV-B 辐射影响将会更大,甚至可能死亡. 微囊藻是我国水华发生的优势藻类,也是高山、高原湖泊水华发生的主要藻类,所以 UV-B 辐射的增强对抑制高山、高原湖泊水华的发生具有一定的积极作用. 一些高原湖泊研究表明,强的 UV-B 辐射会明显降低浮游植物生物量和初级生产力<sup>[9-11]</sup>,所以在中营养和贫营养的高山、高原湖泊中,UV-B 辐射的增强势必会减少进入湖泊生态系统的能量,从而影响浮游动物和鱼类的生长,进而影响整个湖泊生态系统的平衡. 我国的青藏高原和云贵高原许多湖泊都是暴露在强的 UV-B 辐射下,藻类作为湖泊生态系统的初级生产者,在物质循环和能量流动中具有重要作用,因此在青藏高原和云贵高原许多湖泊中的藻类受到增强的 UV-B 辐射胁迫影响,定会威胁到这些高原、高山湖泊脆弱生态系统的稳定性,务必引起高度重视.

#### 4 结论

人工模拟 UV-B 辐射实验表明:当辐射时间达到 1h 时,铜绿微囊藻便开始陆续死亡,但 Chl. a 分子并未分解,且蛋白质浓度升高;当辐射时间达到 4h 前,细胞内 SOD 酶可抵御自由基的攻击,保护细胞膜结构的基本完整;当辐射时间超过 4h 后,Chl. a 浓度和酶活性快速降低,铜绿微囊藻生长明显受 UV-B 辐射胁迫.

致谢:衷心感谢实验过程中给予我无私帮助的张成英、龚伊、汤祥明、许海、杨静、王小冬、陈丹、杨悦等人.

#### 5 参考文献

- [ 1 ] Moina MJ, Rowland FS. Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalysed destruction of ozone. *Nature*, 1974, **249**(5460): 810-812.
- [ 2 ] Kerr J, Meelroy C. Evidence for large upward trends of ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion. *Science*, 1993, **262**: 1032-1034.
- [ 3 ] McKenzie R, Connor B, Bodeker G. Increased summertime UV radiation in New Zealand in response to ozone loss. *Science*, 1999, **285**: 1709-1711.
- [ 4 ] United Nations Environment Programme(UNEP). Environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change. 2002 assessment.
- [ 5 ] George PS. Is the temperature rising? The uncertain science of global warming. Princeton: Princeton University Press, 2000: 1-259.
- [ 6 ] Madronich S, McKenzie RE, Björn LO *et al.* Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's sur-

- face. *J Photoch Photobio B*, 1998, **46**: 5-19.
- [ 7 ] Hidema J, Kumagai T, Sutherland JC *et al.* Ultraviolet B-sensitive rice cultivar deficient in cyclobutyl pyrimidine dimer repair. *Plant Physiol*, 1997, **113**: 39-44.
- [ 8 ] Booth CR, Morrow JH, Coohill TP *et al.* Impacts of solar UVR on aquatic microorganism. *Photochem Photobiol*, 1997, **65**: 252-269.
- [ 9 ] Carrillo P, Delgado-Molina JA, Medina-Sanchez JM *et al.* Phosphorus inputs unmask negative effects of ultraviolet radiation on algae in a high mountain lake. *Global Change Biol*, 2008, **14**: 423-439.
- [ 10 ] Sommaruga R, Augustin G. Seasonality in UV transparency of an alpine lake is associated to changes in phytoplankton biomass. *Aquat Sci*, 2006, **68**: 129-141.
- [ 11 ] Helbling EW, Buma AGJ, Andrade M *et al.* DNA damage and photosynthetic inhibition induced by solar ultraviolet radiation in tropical phytoplankton (Lake Titicaca, Bolivia). *Eur J Phycol*, 2001, **36**: 157-166.
- [ 12 ] 王苏民, 窦鸿身. 中国湖泊志. 北京: 科学出版社, 1998.
- [ 13 ] 胡小贞, 马祖友, 易文利等. 4 种不同培养基下铜绿微囊藻和四尾栅藻生长比较. 环境科学研究, 2004, **17**(增刊): 55-57.
- [ 14 ] 陈宇炜, 陈开宁, 胡耀辉. 浮游植物叶绿素 a 测定的“热乙醇法”及其测定误差的探讨. 湖泊科学, 2006, **18**(5): 550-552.
- [ 15 ] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [ 16 ] 汤章城. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999.
- [ 17 ] Franklinm, Stauber JL, Lim RP. Development of multispecies algal bioassays using flow cytometry. *Environ Toxicol Chem*, 2004, **23**: 1452-1462.
- [ 18 ] 康丽娟, 潘晓洁, 常锋毅等. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 碱度增加对铜绿微囊藻光合活性和超微结构的影响. 武汉植物学研究, 2008, **26**(1): 70-75.
- [ 19 ] 胡鸿钧, 魏印心. 中国淡水藻类-系统、分类及生态. 北京: 科学出版社, 2003: 23-24.
- [ 20 ] 薛林贵, 徐世健, 李师翁等. 螺旋藻对增强的 UV-B 胁迫响应. 水生生物学报, 2007, **31**(2): 201-207.
- [ 21 ] 黎 峥. 不同藻类在 UV-B 处理下的抗性生理研究[学位论文]. 广州: 暨南大学, 2003.
- [ 22 ] Santos I, Almeida JM, Salema R. Plants of *Zea mays* L. developed under enhanced UV-B radiation I. Some ultrastructural and biochemical aspects. *J Plant Physiol*, 1993, **141**: 450-456.
- [ 23 ] Tevini M, Iwanzik W, Thoma U. Some effects of enhanced UV-B irradiation on the growth and composition of plants. *Planta*, 1981, **153**: 388-394.
- [ 24 ] Vu CV, Allen LH, Garrard LA. Effects of supplemental UV-B radiation on primary photosynthetic carboxyl acting enzymes and soluble proteins in leaves of C3 and C4 crop plants. *Physiol Plantarum*, 1982, **55**: 11-16.
- [ 25 ] 聂 麟, 陈 坤, 李效宇. 紫外线-B 增强下 SNP、AsA 对铜绿微囊藻保护作用. 基础理论研究, 2007, **20**(2): 187-190.
- [ 26 ] Poonam B, Ashish KS, Snigdhaul *et al.* Phytochelatin plays a role in UV-B tolerance in N<sub>2</sub>-fixing Cyanobacterium *Anabaena doliolum*. *J Plant Physiol*, 2005, **162**(11): 1220-1224.
- [ 27 ] 周 平, 陈宗瑜. 云南高原紫外辐射强度变化时空特征分析. 自然资源学报, 2008, **23**(3): 487-491.
- [ 28 ] 毕家顺. 低纬高原城市紫外辐射变化特征分析. 气候与环境研究, 2006, **11**(5): 637-641.
- [ 29 ] Caldwell MM, Robberecht R, Billings WD. A steep latitudinal gradient of solar UV-B radiation in the arctic-alpine lift zone. *Ecology*, 1980, **61**: 600-611.
- [ 30 ] Laurion I, Ventura M, Catalan J *et al.* Attenuation of ultraviolet radiation in mountain lakes; Factors controlling the among and within lake variability. *Limnol & Oceanogr*, 2000, **45**: 1274-1288.
- [ 31 ] Zhang YL, Zhang EL, Liu ML *et al.* Variation of chromophoric dissolved organic matter and possible attenuation depth of ultraviolet radiation in Yunnan Plateau lakes. *Limnology*, 2007, **8**: 311-319.