

# UV-B 短期照射对北极冰川小球藻 Chlorella sp. 的生物学效应

彭小伟<sup>1</sup>·<sup>2</sup> 何剑锋<sup>1</sup> 罗玮<sup>1</sup> 李运广<sup>2</sup> 蔡明红<sup>2</sup> (<sup>1</sup>国家海洋局极地科学重点实验室,中国极地研究中心,上海 200136; <sup>2</sup>华中农业大学生命科学技术学院,武汉 430070)

提要 以一种分离自北极冰川融水的淡水微藻(Chlorella sp.)为实验材料,设置两个不同强度 UV-B(45  $\mu$ W/cm²,76  $\mu$ W/cm²)照射处理,每 4 h 取样检测,对其生化组分进行分析,了解微藻 对 UV-B 辐射的响应。研究结果显示小球藻经辐射处理后,其生化成分发生变化:(1)在较低强度的 UV-B(45  $\mu$ W/cm²)辐射下,叶绿素 a(Chla)和类胡萝卜素(Car)含量先升后降,且在 4 h 时有最大值;高强度 UV-B(76  $\mu$ W/cm²)辐射下,Chla 和 Car 含量随辐射时间延长基本呈下降趋势;(2)超氧阴离子(O₂•)和丙二醛(MDA)含量基本随辐照时间的延长和辐照强度的增大而提高,过氧化氢(H₂O₂)含量变化虽随辐照时间的延长呈上升趋势,但直到 12 h 才表现为明显提高;(3)超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性在低 UV-B处理下,随辐照时间的延长呈升高趋势;在高 UV-B 辐射下,SOD 活性先升后降,CAT 活性上下波动;(4) UV-B 辐射使小球藻脂肪酸组成发生了变化。结果表明:UV-B,尤其是高强度或较高剂量的 UV-B 会对北极冰川微藻带来不利的影响。

**关键词** UV-B辐射 小球藻 生化组分 doi:10.3724/SP. I. 1084. 2010. 00164

# 0 前言

近年来臭氧层的破坏一直受到世人的关注。臭氧层的破坏甚至出现臭氧空洞,带来的直接后果是太阳光中透过大气层的的紫外线增多[1],大剂量的紫外线,特别是其中的UV-B对整个地球生态环境来说是一种灾难性的威胁[2-5]。在极地,臭氧层的破坏更为显著,据报道自20世纪90年代起,每年冬季在北极上空均出现臭氧空洞,UV-B的穿透量

「**收稿日期**】 2009 年 3 月收到来稿,2009 年 8 月收到修改稿。

[基金项目] 国家自然科学基金(40806073,40576002)、科技部资源平台项目基金(2005DKA21406)、上海市科 委国际合作项目(052307053)、国家海洋局青年基金(2008128)资助。

[作者简介] 彭小伟,男,华中农业大学和中国极地研究中心联合培养硕士。研究方向为藻类的生理与生态。

「联系作者」 何剑锋, heijanfeng@pric. gov. cn。

也随之大大增加[6,7]。

UV-B 辐射能降低微藻光合作用速率、改变藻类色素的组成,从而影响藻类的生长速率。但仍有许多试验结果表明,UV-B 对微藻的影响并没有人们预测的那样显著。由于微藻细胞内除了遗传学上的对 DNA 损伤的修复机制外,许多种类的微藻还能合成抗紫外线物质来吸收紫外线。这些紫外线吸收物质常常分布在细胞壁中或分泌到其所处的周围环境中。这类物质,有些是藻类细胞固有的,有些则是 UV-B 诱导后形成的,也有些本身就是细胞固有,但在 UV-B 诱导后含量增加[8]。正是由于这类物质的存在,才使一定强度内的 UV-B 不会对细胞造成伤害,一些藻类细胞在刚遇到 UV-B 辐射增强时,会显出受伤害现象,但经过一定时间适应后,即使仍在同样强度的 UV-B 辐射下,也不会表现出受伤害迹象,原因之一就是在 UV-B 的诱导下,藻类细胞大量合成了吸收 UV-B 的物质[9],而使 UV-B 在进入细胞之前已被减弱或滤除。

本研究从色素含量、ROS含量、MDA含量、抗氧化性酶活性等方面,探讨短时间UV-B辐射处理对分离于北极的小球藻的影响以及对UV-B的适应机制,以期为逐渐增强的紫外辐射可能对极区初级生产者产生的影响,提供基础实验依据。

# 1 材料和方法

#### 1.1 实验材料

实验材料采自北极斯匹次卑尔根群岛黄河站 $(78^{\circ}55'N,11^{\circ}56'E)$ 附近的夏季冰川融水坑,试验藻种为小球藻 $(Chlorella\ sp.)$ 。观测资料显示,样品采集地区夏季(1998-2000)空气中的 UV-B 最高平均辐射强度约为  $61~\mu W/cm^{2[10]}$ 。

### 1.2 培养条件和方法

本实验采用 Bourelley 培养基<sup>[11]</sup>。将 *Chlorella* sp. 接种在含 150 mL Bourelley 培养基的 250 mL 石英试管中,通气培养,光照强度为 2000—3000 lux,温度为(6±0.5) $^{\circ}$ 、光暗比为 12 h :12 h。

#### 1.3 UV-B 处理

光源采用功率为 8 W、中心波长为 312 nm 的 UV-B 灯管(上海辰辰照明仪器有限公司)。紫外辐射处理设为 2 组:第 I 组 45  $\mu$ W/cm²,第 II 组 76  $\mu$ W/cm²,以无紫外辐射的为对照组。紫外辐射强度用 IL-1700 光辐射度计测定(美国 IL 公司,探头型号为SED240/UVB-1/TD)。当小球藻生长到对数期,在光周期中进行 UV-B 照射处理。整个紫外照射时间为 12 h,分别在紫外照射的 0、4、8、12 h 和结束照射后的 4 h(16 h)取样,离心收集藻细胞,进行生理指标的测定。以了解不同时间段的 UV-B 照射对小球藻的影响以及小球藻对 UV-B 照射的适应过程。

#### 1.4 生理生化指标测定

1.4.1 叶绿素 a(Chla)和类胡萝卜素(Car)含量

采用 Jensen 方法[12],用 90%丙酮提取,用紫外可见分光光度计测定。

1.4.2 丙二醛(MDA)含量

参照李合生[13]的方法进行测定。

# 1.4.3 抗氧化酶活性

将各试管中的藻液振荡、摇匀,测定  $OD_{700}$ ,利用  $OD_{700}$ 与细胞密度的回归方程计算细胞密度: $y=0.9683x+0.0065(R^2=0.9997)$ ,y 为藻液在 700 nm 处的吸光值,x 是细胞浓度/ $10^7$  (cells/mL),并从中取出 30 ml 藻液,在低温高速离心机中以 8000 r/min 离心 10 min 收集藻体,弃上清液。在离心收集的藻体中加入 4 ml(0.1 mol/L)磷酸缓冲溶液重悬浮,细胞悬液用超声波细胞破碎仪破碎 40 次(破碎功率 400 W,工作 1 s,间隔 2 s)。破碎时做冰浴处理,防止破碎时局部温度升高而影响酶活。破碎液在 4  $\mathbb{C}$  环境下放置 1 h,然后用冷冻离心机离心 20 min,离心机的转速为 12000 r/min,温度为 4  $\mathbb{C}$  。提取上清液即为粗酶液,粗酶液在 4  $\mathbb{C}$  条件下保存待测。

#### 1.4.3.1 超氧化物歧化酶(SOD)

SOD 活力单位定义:单位数量藻细胞 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

# 1.4.3.2 过氧化氢酶(CAT)

CAT 活力单位定义:单位数量藻细胞中 CAT 每分钟分解吸光度为 0.5—0.55 的底物中过氧化氢相对量为一个 CAT 活力单位。

SOD 和 CAT 活性分别采用超氧化物歧化酶测试试剂盒和过氧化氢酶测试试剂盒进行测定[14]。

#### 1.4.4 活性氧含量

1.4.4.1 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

 $H_2O_2$  含量采用 TiCl<sub>4</sub> 法<sup>[15]</sup>。

1.4.4.2 超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub>•)

O<sub>2</sub>• 含量按照王爱国和罗广华[16] 方法。

#### 1.5 数据处理

实验数据采用 SPSS13.0 进行分析。

# 1.6 脂肪酸组成

为了解较强的 UV-B 辐射对小球藻细胞脂肪酸组成的影响,对该藻株以 12 h 的 76  $\mu$ W/cm² UV-B 辐射照射,然后以 4500 r/min 离心 5 min 收集藻体,一70 ℃超低温冰箱 预冷后,于一40 ℃冷冻干燥 4 h(Thermo 冷冻干燥机,美国热电公司),得到干燥藻粉。另设无辐射的对照组。20 mg 微藻干粉,置于螺口试管中;加入 1 mL 的 KOH-CH<sub>3</sub>OH 溶液,充氮气保护,轻轻摇动几下,于 75 ℃水浴皂化 10 min;冷却后加入 2 mL 的 1 mol/L 的 HCl-CH<sub>3</sub>OH 溶液(使 pH≤2),振荡 1 min;然后于 75 ℃水浴甲酯化 10 min;冷却后加入 0.5 mL 石油醚,振荡,分离提取脂肪酸;加入少许蒸馏水促进分层,振荡后离心,取上层石油醚进行色谱分析。

气相色谱仪 GC7890A-5975MS 型;气相色谱柱:30 m×250  $\mu$ m×0.25  $\mu$ m HP-5MS。进样温度:280  $\mathbb{C}$ ;初温:60  $\mathbb{C}$ ,25  $\mathbb{C}$ /min,升到 200  $\mathbb{C}$ ,15  $\mathbb{C}$ /min 升到 280  $\mathbb{C}$ ;检测温度:280  $\mathbb{C}$ ;载气:高纯氦;流速:1 mL/min;进样量:1  $\mu$ L。色谱检测在国家海洋局第一海洋研究所完成。

# 2 结果

不同处理方式对小球藻 Chla 和 Car 含量的的影响见图 1。同一 UV-B 强度,处理不同时间,对小球藻 Chla 和 Car 含量的影响不同,在第 I 组辐照下,Chla 和 Car 含量在 4 h 后达最高值,分别为  $12.8\times10^{-12}$  mg/cell 和  $4.5\times10^{-12}$  mg/cell,4—8 h 之间大幅下降。在 8 h,三组的叶绿素 a 含量几乎相同,I 组与对照组的 Car 含量相差很小,而在第 II 组高强度辐射下,Car 含量显著降低。之后两组辐射照射下的 Chla 和 Car 含量均呈缓慢下降,而对照组则呈缓慢升高。除了 8 h 时的检测结果,不同处理组同一时间点的数据两两之间差异显著。UV-B 照射熄灭以后 4 h 后,色素含量与同处理组的 12 h 处的含量相比,没有显著变化。

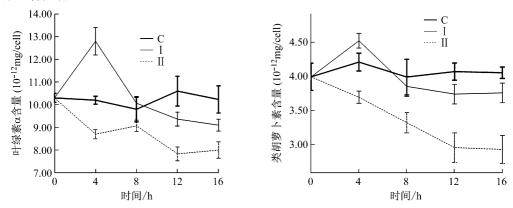


图 1 UV-B 辐射对小球藻叶绿素和类胡萝卜素含量的影响(Mean±SD,n=3) Fig. 1. Effects of UV-B radiation on Chla and Car of *Chlorella* sp.

检测结果显示(图 2),在 12 h 辐射处理过程中,小球藻 MDA 含量均呈显著升高趋势,且辐射强度越强,MDA 含量升高越显著;同一 UV-B 辐射强度处理,处理时间越长,MDA 含量越高。辐射处理结束后 4 h,两组处理的 MDA 含量稍有下降,而对照组的 MDA 含量稍有上升,但是变化都不显著(p>0.05)。

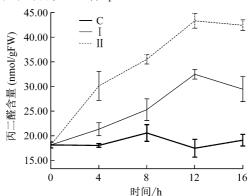


图 2 UV-B 辐射对小球藻丙二醛含量的影响(Mean±SD,n=3) Fig. 2. Effects of UV-B radiation on MDA of *Chlorella* sp.

 $H_2O_2$  和  $O_2$ • 的含量随时间变化的趋势显示(图 3):辐射处理组(I,II)的 UV-B 处理阶段,辐射组  $H_2O_2$  含量呈显著升高,8—12 h 之间的  $H_2O_2$  含量升幅异常显著,其检测值在 12 h 达最高点,其后 4 h 则快速下降。而无辐射组的  $H_2O_2$  含量则变化不明显。 $O_2$ • 的含量则呈升高趋势; UV-B 辐射强度越高,小球藻细胞对  $O_2$ • 的积累越是显著,如处理12 h 后,I, II 组  $O_2$ • 含量相对 C 组分别提高了  $1.1 \times 10^{-9}$  mmol/cell 和  $1.8 \times 10^{-9}$  mmol/cell(p < 0.05)。12 h 之后辐射组的  $O_2$ • 含量则略微下降。

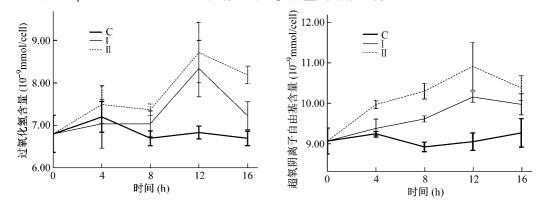


图 3 UV-B 辐射对小球藻过氧化氢和超氧阴离子自由基含量的影响 (Mean±SD,n=3) Fig. 3. Effects of UV-B radiation on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> · of *Chlorella* sp.

小球藻在不同强度的 UV-B 处理后测量的 SOD 和 CAT 活性显示(图 4):低强度的 UV-B 辐射处理会使小球藻 SOD 和 CAT 活性增强,且其活性基本是随着 UV-B 辐射时间的延长增强。而高强度的 UV-B 辐射则对 SOD 活性有"双向作用",短时间的 UV-B 辐射可以使小球藻活性增强,如小球藻 SOD 活性在 4 h 处最强为  $1.9\times10^{-9}$  U/cell,随着辐射时间的延长,其活性呈下降趋势;高强度的 UV-B 辐射 8 h 内对 CAT 活性影响不大, UV-B 辐射时间进一步延长则会使 CAT 活性下降,紫外辐射处理结束后 4 h,CAT 活性急剧上升,而 I 组的 CAT 活性变化不明显。

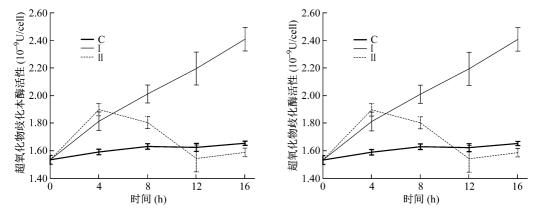


图 4 UV-B 辐射对小球藻 SOD 和 CAT 活性的影响(Mean±SD, n=3) Fig. 4. Effects of UV-B radiation on SOD and CAT activity of *Chlorella* sp.

紫外辐射处理前后,小球藻的脂肪酸组成和含量有所变化。脂肪酸的种类有所减少,能检测出来的吸收峰由8个变为7个,其中多不饱和脂肪酸(PUFA)的种类由2种变为1种。总饱和脂肪酸含量由17.02%增高为20.4%,其中C16:0百分含量增加了4.06%;总多不饱和脂肪酸含量下降了4.33%,C18:2含量由7.85%下降为0,C18:3含量增加了3.51%。

### 表 1 UV-B 辐射前后小球藻脂肪酸组成

Table 1. Fatty acid composition ( %, weight percentage of fatty acid) of Chlorella sp No/on UV-B radiation

脂肪酸(fatty acid)	对照(control)	处理(treat)	_
C12 :0	0.1	0.12	
C14 :0	0.22	0.25	
C15 :0	0.19	0.16	
C16 :1	4.78	4.76	
C16 :0	15.81	19.87	
C18 :2	7.85	_	
C18 :3	70.38	73.89	
C18 :0	0.7	0.73	
$\Sigma$ SFA	17.02	20.4	
$\Sigma$ MUFA	4.78	4.76	
$\Sigma$ PUFA	78. 23	73.89	

 $\dot{\gamma}$ ,  $\Sigma$ SFA, 总饱和脂肪酸;  $\Sigma$ MUFA, 总单不饱和脂肪酸;  $\Sigma$ PUFA, 总多不饱和脂肪酸

# 3 讨论

# 3.1 UV-B辐射对色素含量的影响

UV-B 对藻类的伤害,轻则抑制其光合作用、生长和发育,重则导致其细胞死亡。这些外部表现,归根到底都是使构成细胞的分子受到伤害。UV-B 对藻细胞中分子的伤害目标主要是蛋白质、色素、DNA等。

UV-B 对藻类色素的影响是不同的,对某些色素有破坏作用,而对有些色素还有诱导作用。Bischof 等<sup>[17]</sup>研究结果表明 UV-B 破坏的主要是光合色素。Gerber 和 Haeder<sup>[18]</sup>的实验结果显示:UV-B处理后,实验藻样叶绿素浓度明显降低,而且 Chla 比 Chlb 更易受到破坏;而 Car 和藻胆蛋白则很少破坏,甚至还有增加。而本研究中辐射处理组的 Car含量则整体呈下降趋势,可能是 UV-B 照射强度和剂量的不同,也可能是藻种对 UV-B 耐受程度不同。在第 I 组处理中小球藻 Chla 含量在前 4 h 呈上升趋势,部分原因可归结为起保护作用的 Car 含量的短暂升高,因为类胡箩卜素是高能短波辐射的淬灭剂,它能保护光合系统免受光氧化的破坏<sup>[19]</sup>。

在第 I 辐射组,4 h 检测的 Chla 和 Car 含量均高于同期对照组(C)。在一定的 UV-B 辐射剂量刺激下显示"短暂兴奋效应",这可能是小球藻可以吸收更多的光能来合成光合色素、或 UV-B 辐射抑制了小球藻细胞的分裂。而在较高强度的第 II 处理组,其 Chla 和 Car 的含量均低于第 I 辐射组和无辐射组,且呈快而持续的下降趋势,这显示较高 UV-B 辐射强度对小球藻细胞的伤害效应更为明显。

# 3.2 对活性氧(ROS)和 MDA 含量的影响

生物体光合色素和氧化还原复合物(如叶绿素、藻胆素和醌类物质等)在 UV-B 波段

有很强的吸收,它们将聚集的能量传递给氧,导致活性氧的产生。ROS包括  $O_2 \cdot$ ,  $^1O_2$ ,  $H_2O_2$  和  $OH \cdot$  等。活性氧具有还原性、高能和不稳定等特点。植物在受到 UV-B 辐射时,通常认为是由氧自由基造成膜的伤害;而本实验组中 ROS 含量升高,MDA 含量也随之上升的现象与此理论相符。过量的活性氧类会对植物造成氧化胁迫,产生细胞水平上的不可逆损伤,导致膜流动性的降低和透性的增加、蛋白质功能丧失及 DNA 的损伤与突变,从而造成细胞死亡和异常蛋白质形成,最终对植物造成伤害。本研究中,处理组的  $O_2 \cdot$ ,  $H_2O_2$  含量的显著上升,直接表明小球藻细胞在 UV-B 照射强度增强过程中,细胞受损程度的加深。

MDA 是不饱和脂肪酸过氧化产物之一,它的含量多少代表了膜脂过氧化的程度。 Halliwell<sup>[20]</sup>认为,丙二醛既是过氧化产物,又是一种能强烈地与细胞内各种成分发生反应的物质,会造成酶和膜的严重损伤,以及膜电阻和膜的流动性降低,最终会导致膜的结构及生理完整性的破坏。本实验组的 MDA 含量呈显著上升趋势,表明实验中小球藻细胞膜脂过氧化程度随辐射强度和剂量增强加深;也间接表明小球藻承受环境压力的能力增强。

# 3.3 对抗氧化酶活性的影响

所有植物体内都存在着一整套比较完善的抗氧化系统,它们与生物体的抗盐性、抗旱性、抗热性、抗冻性及其他抗逆境胁迫的能力密切相关<sup>[21]</sup>。抗氧化酶为植物体内抗氧化系统的重要组成部分。自从 Mccord 和 Fridovich<sup>[22]</sup>提出生物活性氧伤害以来,以 SOD 为中心的抗氧化酶系统在植物抗逆境胁迫中的作用受到了高度的重视。

SOD 是一群含金属离子的酶,其功能是将  $O_2$ • 歧化成  $H_2O_2$  和  $O_2$ <sup>[23]</sup>。其中一部分是组成性表达,另外一部分是诱导性的或受生长发育调节。作为诱导性的 SOD 是一种底物诱导酶。UV-B 辐射条件下,当微藻细胞内  $O_2$ • 浓度高于正常水平时,SOD 的生物合成能力会在  $O_2$ • 诱导下增高,从而导致 SOD 活性增加,这一结果间接说明 UV-B 辐射会促进微藻  $O_2$ • 生成。

CAT可催化  $H_2O_2$  形成  $H_2O_2$  它和 SOD 都能清除超氧化物自由基,抑制膜脂过氧化水平,在减轻膜脂伤害上可能起着一种保护作用。本研究中,I 处理下,SOD 和 CAT 活性随着 UV-B 强度的增大而加强,显示了一定强度的 UV-B 辐射下,小球藻增强了对活性氧的清除能力,这与于娟等[24]得出的结果类似。随着辐射时间的延长,微藻细胞内将大量产生  $O_2$ • 和  $H_2O_2$ ,如果活性氧的产生量超过 SOD 和 CAT 对  $O_2$ • , $H_2O_2$  的清除能力,活性氧成分就会对机体产生危害,这又会造成 SOD 和 CAT 活性的下降[25],在本试验中的第 II 组辐射处理下,与同时间点的 C 组相比,小球藻 SOD 活性先迅速升高 (p<0.01),然后基本呈下降趋势。

# 3.4 UV-B 辐射对脂肪酸组成的影响

大量的研究结果<sup>[26-28]</sup>显示:UV-B辐射培养可使试验藻类的脂肪酸组成和含量发生变化,本研究也观察到这种现象。UV-B辐射培养后,总饱和脂肪酸含量上升,总多不饱和脂肪酸含量下降。可能由 UV-B辐射产生的活性氧自由基攻击脂肪酸,尤其是不饱和脂肪酸烷基侧链所致。C16:0和 C18:3含量有所增加,可能因为他们在小球藻的抗紫外辐射方面起着重要的作用。

总之,本研究的结果显示:小球藻在低于采集地 UV-B 强度下培养时,虽表现出受伤害的症状,但是小球藻对此表现出较强的适应能力。但在高于采集地 UV-B 强度下培养时,更多表现了受到伤害的症状。

本研究以北极小球藻对 UV-B 辐射增强的响应和适应结果,支持了 UV-B 辐射导致细胞内活性氧自由基的增加、自由基伤害学说以及保护酶系统在清除自由基方面起着重要作用的理论,而且发现,UV-B 辐射处理结束 4 h 后,UV-B 处理下的小球藻 O₂•, H₂O₂和 MDA 含量都不再增加甚至有所下降,保护酶活性不变甚至升高,这表明小球藻可以通过自身的调节来清除有害物质的含量,使自身免于受到伤害,显示了该藻株对较强辐射环境的适应能力。

**致谢** 感谢中国极地研究中心实验员楼妍颖在实验过程中提供的帮助,感谢国家海洋局第一海洋研究所在脂肪酸测定中提供的帮助。

# 参考文献

- Gross C, Tueg H and Schrems O. Three years spectral resolved UV-measurements at Koldewey-Station (1997—1999). Mem Nat Inst Polar Res, 2001, 54; 113—123.
- 2 Rozema J, Bjorn L O, Bornman J F, et al. The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems-an experiment and functional analysis of the evolution of UV-absorbing comounds. Photochem Photobiol B, 2002, 66(1): 2—12.
- 3 Obermuller B, Karsten U, Portner H O, et al. Antarctic Biology in a Global Context. proceeding of the 8th SCAR International Biology Symposium 2001, Amsterdam, Leiden: Backhuys Publishers, 2003; 63—68.
- 4 He Y Y and Häder D P. Involvement of reactive oxygen species in the UV-B damage to the cyanobacterium *Anabaena* sp. Photochem Photobiol, 2002; 66(1), 73—80.
- 5 周秋麟, 尹卫平, 陈宝红. 紫外线 B 对海洋生态系统的影响. 台湾海峡, 2004, 23(1): 107-113.
- 6 Madronich S, Mckenzie R L, Bjorn L O, et al. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth' surface. Photochem Photobiol Sci, 2003, 2: 5—15.
- 7 Stolarski R, Bojkov R, Bishop L, et al. Measured trends in stratospheric ozone. Science, 1992, 256; 342-349.
- 8 Singh S P, Klisch M, Häder D P, et al. Role of various growth media on shinorine (mycosporine-like amino acid) concentration and photosynthetic yield in *Anabaena variabilis* PCC 7937. World J Microbiol Biotechnol, 2008, 24 (12): 3111—3115.
- 9 Sfichi-Duke L, Ioannidis N E and Kotzabasis K. Fast and reversible response of thylakoid-associated polyamines during and after UV-B stress; a comparative study of the wild type and a mutant lacking chlorophyll *b* of unicellular green alga. Scenedesmus obliquus, Planta, 2008; 228(2); 341—353.
- 10 Svendsen H, Beszczynska A, Hagen J O, et al. The physical environment of Kongsfjorden-Krossfjorden, an Arctic fjord system in Svalbard. Polar Res, 2002, 21(1): 133—166.
- 11 Hegewald E, Krienitz L and Schnepf E. Studies on Scenedesmus costato-granulatus Skuja. Nova Hedwigia, 1994, 59: 97—127.
- 12 Jensen A. Chlorophyll and Carotenoid handbook of physiological method. Physiological and biochemical method. Hellebust J A and Craigie T S (eds). New York: Cambridge University Press, 1978: 59—70.
- 13 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: 260-261.
- 14 左向宇. 不同培养条件下两种针胞藻类生长特性及抗氧化酶活性研究. 广州: 暨南大学出版社, 2006: 23-25.
- 15 Patterson B D, MacRae E A and Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium

- (N). Anal Biochem, 1984, 139(2): 487-492.
- 16 王爱国,罗广华. 植物的超氧物自由基与轻胺反应的定量关系. 植物生理学通讯, 1990, 29(6): 55—57.
- 17 Bischof K, Hanelt D, Aguilera J, et al. Seasonal variation in ecophysiological patterns in macroalgae from an Arctic fjord. I. Sensitivity of photosynthesis to ultraviolet radiation. Mar Biol, 2002, 140(6): 1432—1793.
- 18 Gerber S and Haeder D P. Effects of solar irradiation on motility and pigmentation of three species of phytoplankton. Envion Exp Bot, 1993, 33(4): 515—521.
- Ekelund N G A. Influence of UV-B radiation on photosynthetic light-response curves, absorption spectra and motility of four phytoplankton species. Physiol Plant, 1994, 91(4): 696—702.
- 20 Halliwell B. Chloroplast metabolism, the structure and function of chloroplasts in green leaf cells, Oxford: Oxford Science publications. 1981; 257.
- 21 Lee E H and Bennett J H. Superoxide dismutase, a possible protective enzyme against ozone injury in snap bean (*Phaseolus Vulgaris*). Plant Physiol, 1982, 69: 1444—1449.
- McCord J M and Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzyme function for erythrocuprein (*Hemocuprein*). Biol Chem, 1969, 224: 6049—6055.
- 23 莫简. 活性氧及其生物学作用. 生物化学与生物物理进展. 1981, 2: 23-29.
- 24 于娟, 唐学玺, 李永棋, 等. UV-B 辐射对海洋微藻抗氧化系统的影响. 海洋科学, 2001, 2(12): 49-53.
- 25 王健华,刘鸿先,徐同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用. 植物生理学通讯,1989,(1): 1-7.
- Gombos Z, Kanervo E, Tsvetkova N, et al. Genetic Enhancement of the Ability to Tolerate Photoinhibition by Introduction of Unsaturated Bonds into Membrane Glycerolipids, Plant Physiol, 1997, 115(2): 551—559.
- 27 Skerratt J H, Davidson A D, Nichols P D, et al. Effect of UV-B on lipid content of three antarctic marine phytoplankton. Phytochemistry, 1998, 49(4): 999—1007.
- 28 缪锦来, 阚光锋, 姜英辉, 等. 4 种南极冰藻的生化组成对 UV-B 辐射增强的响应. 海洋科学, 2004, 28(9): 26-31.

# THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES OF AN ARCTIC MICROALGAE (CHLORELLA SP.) TO UV-B RADIATION

Peng Xiaowei<sup>1,2</sup>, He Jianfeng<sup>1</sup>, Luo Wei<sup>1</sup>, Li Yunguang<sup>2</sup> and Cai Minghong<sup>1</sup>

(¹Key Laboratory for Polar Science of the State Oceanic Administration, Polar Research Institute of China, Shanghai 200136, China; ²Life Sciences and Technology College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

#### **Abstract**

The response of an Arctic microalgae strain (*Chlorella* sp.) to the enhancement of UV-B radiation was explored in this paper. The effects of three different intensity (0  $\mu$ W/cm², 45  $\mu$ W/cm², 76  $\mu$ W/cm²) on *Chorella* sp. within 12 h radiation following with 4 h non-radiation recovery were studied, while the biochemical components were tested by sampling every 4 h. Our results showed that: (1) Under the lower intensity of UV-B (45  $\mu$ W/cm²) radiation, Chla and Car content increased in the beginning 4 h and

then decreased. The maximum value presented after 4 h. Meanwhile, under high-intensity UV-B (76  $\mu$ W/cm²) radiation, Chla and CAR content constantly decreased. (2) The content of  $O_2^{\bullet}$  and MDA enhanced along with radiation time and intensity. Moreover,  $H_2O_2$  content also increased with irradiation time; significant variance happened after 8 h radiation. (3) SOD, CAT activity under the lower UV-B treatment, increased with irradiation time as well. Under higher UV-B radiation, SOD activity increased at the beginning 4 h and then decreased constantly, CAT activity fluctuated from time to time. (4) The fatty acid composition of *Chlorella* sp. was influenced. The results supported that UV-B had adverse effects on the Arctic glacier's microalgae, and the effect of hurt was more significant under high-intensity or high doses of UV-B.

**Key words** UV-B radiation, *Chlorella* sp., biochemical composition