

DOI: 10.5846/stxb201405211049

李伟, 杨雨玲, 黄松, 董丽丽, 潘健, 李亚鹤, 周月, 高坤山. 产毒与不产毒铜绿微囊藻对模拟酸雨及紫外辐射的生理响应. 生态学报, 2015, 35(23):

Li W, Yang Y L, Huang S, Dong L L, Pan J, Li Y H, Zhou Y, Gao K S. Physiological responses of toxigenic and non-toxigenic strains of *Microcystis aeruginosa* to simulated acid rain and UV radiation. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(23):

# 产毒与不产毒铜绿微囊藻对模拟酸雨及紫外辐射的生理响应

李 伟<sup>1,2</sup>, 杨雨玲<sup>1</sup>, 黄 松<sup>1</sup>, 董丽丽<sup>1</sup>, 潘 健<sup>1</sup>, 李亚鹤<sup>2,3</sup>, 周 月<sup>1</sup>, 高坤山<sup>2,\*</sup>

1 黄山学院生命与环境科学学院, 黄山 245041

2 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005

3 宁波大学海洋学院, 宁波 315211

**摘要:** 为了比较研究酸雨与紫外辐射对淡水水体常见藻华蓝藻的生理学影响, 本文选取铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 产毒 (FACHB-905) 与不产毒 (FACHB-469) 株系作为实验材料, 通过人工模拟酸雨, 研究了不同 pH 处理后 2 藻株的光合生理变化以及对紫外辐射的敏感性的异同。实验设置 3 个 pH 梯度, pH7.10 为对照组 (正常培养基培养的藻体), 两模拟酸雨处理组 (pH 5.65 和 pH4.50); 两种辐射处理, 可见光处理 (PAR) 以及全波长辐射处理 (PAB)。研究表明, 905 藻株细胞粒径在各 pH 处理下都要显著高于 469 藻株, 模拟酸雨处理显著降低了两藻株细胞的平均粒径及体积, 但叶绿素含量显著提高; 酸雨处理同时也引起细胞死亡率的增加, 表现为藻体有效光化学效率显著降低, 生长速率显著受到抑制, 低 pH 下呈负增长, 且这种抑制程度在 469 下更为显著。高的可见光以及紫外辐射处理, 使两株系有效光化学效率随 pH 的降低而呈降低趋势, 其中 469 藻株降低至更低的水平, 且高光辐射以及紫外诱导的抑制率要显著高于 905 藻体, 这可能与 469 藻株较低的光保护色素有关 (较低的类胡萝卜素以及紫外吸收物质)。在未来全球变化背景下, 不同种类的浮游植物对环境变化的响应及适应能力不同, 可改变水体的群落结构和种群丰度, 铜绿微囊藻 905 较 469 较强的耐受酸雨以及紫外辐射的能力, 可能会使该株系在竞争力上占据优势。

**关键词:** 铜绿微囊藻; 酸雨; 紫外辐射; 生长; 光合特性

## Physiological responses of toxigenic and non-toxigenic strains of *Microcystis aeruginosa* to simulated acid rain and UV radiation

LI Wei<sup>1,2</sup>, YANG Yuling<sup>1</sup>, HUANG Song<sup>1</sup>, DONG Lili<sup>1</sup>, PAN Jian<sup>1</sup>, LI Yahe<sup>2,3</sup>, ZHOU Yue<sup>1</sup>, GAO Kunshan<sup>2</sup>

1 College of Life and Environmental Sciences, Huangshan University, Huangshan 245041, China

2 State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

3 College of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China

**Abstract:** Acid precipitation from natural and human activities can lead to different extents of acidification in different freshwater ecosystems, with noticeable changes in the carbonate system and aquatic chemistry. For example, acidification is known to decrease the ionic concentrations of magnesium and calcium, but enhance aluminum concentrations. The changes to chemicals associated with freshwater acidification could induce physiological disturbance to most aquatic organisms, which would then need to spend additional energy to cope with acidic stress. Phytoplankton species with different sensitivities to acid stress may have differential physiological responses; thus, acid stress may lead to altered community

**基金项目:** 安徽省自然科学基金青年项目 (1508085QC67); 黄山学院博士启动项目 (2014xkjq002); 安徽省大学生创新创业项目 (AH2014103753126); 近海海洋环境科学国家重点实验室 (厦门大学) 访问学者基金 (MEL Visiting Fellowship) (MELRS1314)

收稿日期: 2014-05-21; 网络出版日期: 2015-

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ksgao@xmu.edu.cn

structure and species richness. Alternatively, UV-B (280—320 nm) irradiance has been increasing due to stratospheric ozone depletion, which would also impact freshwater phytoplankton. Meanwhile, significantly decreased dissolved organic matter as a result of acid rain may further enhance the penetration of solar UV radiation (UVR, 280—400 nm) in the water column due to decreased light attenuation. Therefore, freshwater acidification and solar UVR may interact to influence phytoplankton physiology. This study examined the physiological responses of a freshwater bloom forming cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to acidification and UVR. Two strains were used for the experiments; a toxigenic strain (FACHB-905) and a non-toxic strain (FACHB-469). *Microcystis aeruginosa* cells were grown under simulated acid rain (with a mole ratio of  $H_2SO_4:HNO_3 = 8:1$ ) under a solar simulator with and without UVR, to observe whether photosynthetic performance and sensitivity to UV irradiance differed between the two strains. Three pH levels were used, pH 7.10 (regular BG11+N medium), 5.65, and 4.50, with the latter two pH levels reflecting acidification conditions. Two solar radiation treatments were carried out, including: photosynthetically active radiation alone (PAR, 400—700 nm) and PAR+ UV-A+ UV-B (PAB, 295—700 nm). Our results indicate that the mean cell size and cell volume of the 905 strain was significantly higher than those of the 469 strain in all pH treatments. Acidification treatment significantly lowered mean cell size and volume, but enhanced the chlorophyll a content in both strains. Under the lowest pH (4.50), higher mortality rates were observed for both strains, with decreased effective quantum yield. The inhibition of the growth rate was more pronounced in the non-toxic strain. The effective quantum yield declined with decreasing pH level when cells were exposed to high levels of PAR and PAR+UVR. UV-induced inhibition of effective quantum yield was much higher in the non-toxic strain compared to the toxic strain. This differential response may be attributed to different contents to UV absorbing compounds and carotenoids. Under the global climate change scenario, increasing aquatic acidification and UV irradiance might decrease the competence of the non-toxic strain over the toxic one.

**Key Words:** *Microcystis aeruginosa*; acid rain; UV radiation; growth; photosynthesis

酸雨是继温室效应、臭氧空洞等环境问题之后的第三大环境问题<sup>[1]</sup>,酸雨引起的潜在环境影响以及经济损失已经成为世界各国关注的热点问题<sup>[2]</sup>。已有研究表明,酸雨导致的水体  $H^+$  及  $Al^{3+}$  浓度增加可引起对酸性敏感的鱼类的离子、渗透压调节以及气体交换功能的紊乱<sup>[3, 4]</sup>,并可与酸性水体中阳离子(钙、镁、钠等)的丢失协同影响水生动物的生理、代谢活动<sup>[5, 6]</sup>。在浮游植物中,酸雨可影响水体浮游植物叶绿素含量<sup>[7]</sup>,改变浮游植物的光合生理以及群落结构,低 pH 下水生浮游植物多样性显著受到抑制<sup>[8, 9]</sup>。

阳光紫外辐射(UVR)可对大多数水生浮游植物产生负面影响。UVR可降低浮游植物的光合效率,抑制浮游植物的生长<sup>[10]</sup>,并可与其他环境因子,如营养盐<sup>[11]</sup>、光强<sup>[12]</sup>等耦合降低浮游植物的初级生产过程。在当前气候变化背景下,UVR强度的增加以及区域性的分布不均衡<sup>[13, 14]</sup>,将会协同其他环境因子对水生浮游植物的光合生理产生长期、持续的影响<sup>[15]</sup>,且水体酸化导致水体溶解有机质含量降低,可进一步增强UV辐射在水体中的强度和透射深度<sup>[16]</sup>。

在应对环境胁迫时,不同种类浮游植物的响应、适应能力具有较大差异<sup>[17]</sup>,这种差异性可改变水体的浮游植物群落结构以及种群丰度。蓝藻作为最古老的一类光合自养生物,对环境变化的适应能力较强<sup>[18]</sup>。虽然有关蓝藻(螺旋藻、微囊藻、念珠藻等)对UV辐射的响应得到了一定的研究<sup>[19-21]</sup>,但很少涉及酸雨与紫外辐射耦合对典型蓝藻生理、生化的影响,尤其是选取具有代表性的水华蓝藻铜绿微囊藻产毒与不产毒株进行比较性研究,尚未见报导。通过对以往原位调查的研究可知,自然界中常见藻华种类多以危害较大的产毒株为主<sup>[22]</sup>,但具体形成机制如何尚需进一步探讨。不同类型的微囊藻光合生理在响应主要环境变化(酸雨、UV辐射等)的能力上是否具有差异,以及差异程度如何,可能是决定未来哪种藻在竞争地位上更占优势的主要因素。因此,本研究选取我国重要的淡水水华蓝藻铜绿微囊藻的两个不同品系为研究对象,希望从生理学的角度探讨酸雨对两株藻光合生理的影响以及二者响应的异同,并且研究经酸雨处理后两株藻体对紫外辐射的

敏感性和耐受能力,以期了解不同类型浮游植物响应环境变化的生理学差异,为进一步探究微囊藻水华的优势类群提供生理学数据,同时也能够为预测未来微囊藻水华发生的优势种类提供理论依据。

## 1 材料方法

### 1.1 实验材料及培养条件

铜绿微囊藻 FACHB-905 及 FACHB-469 由马增岭副教授(温州大学)惠赠。藻体置于生物培养箱内使用 BG11(+N)培养基培养,温度为 20℃,培养光强为 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,光暗比(L:D)为 12:12,在此条件下适应培养 20 代(指数增长期)后进行实验。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 模拟酸雨及 pH 值的测定

模拟酸雨母液使用 98%的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  和 65%  $\text{HNO}_3$  按照摩尔比 8:1 进行配制。通过向已经加入 BG11(+N)培养基的溶液中加入不同体积的上述酸雨母液,获得 3 个 pH 梯度,即 pH 7.10 (对照组,正常培养基不加模拟酸雨母液)以及模拟酸雨处理组 pH 5.65 和 4.50。模拟不同 pH 的酸雨过程中,培养基的 pH 测定使用 Mettler Toledo DL15 Titrator (Sweden) 进行,在测定前,使用 NBS (National Bureau of Standards) 缓冲液 (pH 4.01, 7.01 和 10.01 三点) 进行校正。

#### 1.2.2 藻细胞酸雨处理

将正常培养状态下的藻细胞(指数增长期)转移至提前调节好 pH 的模拟酸雨培养基中,初始细胞浓度为每毫升  $5 \times 10^4$  个细胞,置于体积为 1L 的聚碳酸酯瓶中密闭培养 24 小时,除 pH 7.10 下细胞浓度增加,低 pH 处理下细胞浓度增长较少或呈负增长,在此条件下,pH 值在培养期间变动较小,整体保持稳定水平(表 1)。培养光照、温度及光暗比同上。培养期间定期摇晃培养瓶以保证细胞充分悬浮。每个处理下 3 个重复培养。

表 1 铜绿微囊藻 FACHB-469 和 FACHB-905 经不同 pH 处理前后培养体系的 pH 值

Table 1 The pH values in *Microcystis aeruginosa* FACHB-469 and FACHB-905 at the initial and after 24 hours culture in different pH treatments

藻株 Strain	处理时间 Time	pH7.10	pH5.65	pH4.5
FACHB-469	初始	7.12±0.02	5.66±0.01	4.52±0.02
	24 小时	7.17±0.03	5.71±0.02	4.56±0.02
FACHB-905	初始	7.13±0.01	5.66±0.01	4.52±0.02
	24 小时	7.18±0.02	5.69±0.03	4.57±0.03

#### 1.2.3 比生长速率的测定

比生长速率( $\mu$ )的测定根据下面的公式求得: $\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / t$  其中  $N_t$  为各 pH 下处理 24 小时( $t$ )后的细胞浓度, $N_0$  为初始细胞浓度。各处理下藻体细胞浓度使用 Z2 Coulter Counter (Beckman Instruments, Florida, US) 进行计数,通过该仪器可获得藻体细胞粒径以及细胞体积分布图。

#### 1.2.4 色素及紫外吸收物质(UVACs)的测定

将经不同 pH 处理的藻体过滤至 Whatman GF/F 滤膜(孔径 0.22  $\mu\text{m}$ ),置于 15 ml 离心管中,加入 5ml 甲醇后放入 4℃ 冰箱内过夜提取(12 小时),然后将提取液在离心机内离心 10min (5000  $\text{g}/\text{min}$ ),最后用分光光度计测定上清液全波段(250-700 nm)的吸光值。

叶绿素 a 含量的测定参照 Porra (2002)<sup>[23]</sup> 的方法进行计算,计算公式如下:

$$\text{叶绿素 a } (\mu\text{g}/\text{mL}) = 16.29 \times (A_{665} - A_{750}) - 8.54 \times (A_{652} - A_{750})$$

类胡萝卜素含量的测定方法参照 Parsons&Stricklan (1963)<sup>[24]</sup> 的方法进行计算,计算公式如下:

$$\text{类胡萝卜素 } (\mu\text{g}/\text{mL}) = 7.6 \times [(A_{480} - A_{750}) - 1.49 \times (A_{510} - A_{750})]$$

紫外吸收物质(UVACs)的含量测定参照徐军田(2008)的计算方法进行,即通过计算 UVACs 吸收峰的峰高值( $H$ )与藻体叶绿素 a 含量的比来表示 UVACs 的含量<sup>[25]</sup>。

### 1.2.5 紫外辐射处理

将不同 pH 下培养 24 小时后的藻体(905,469)分装至石英管(可透 UVR)。每个 pH 水平下的藻体分别给予两种辐射处理即:(1)可见光(PAR)处理(400—700 nm),在石英管外包裹一层 Ultraphan395 滤膜(UV Opak, Digefra, 德国慕尼黑),滤除紫外线(UV-A,320—400 nm)和紫外线 B(UV-B,280—315 nm);(2)可见光+紫外系 A+紫外线 B(PAB)处理(295—700 nm),在石英管外包裹一层 Ultraphan 295 滤膜(UV Opak, Digefra, 德国慕尼黑生产),该膜可以使藻体接受全波段的辐射。每种辐射处理下三个重复。整个辐射处理在人工光源太阳模拟器(Sol 1200W; A. G. Hönle, Martinsried, Germany)下进行,通过调整石英管与太阳模拟器间的距离,调节辐射强度。本实验的光强设置分别为,PAR 的强度为 87.5 w/m<sup>2</sup>,UV-A 的强度为 33.5 w/m<sup>2</sup>,UV-B 的强度为 1.91 w/m<sup>2</sup>(参考我国南方地区夏季 UVB 强度设置)。

### 1.2.6 叶绿素荧光参数测定

将培养光强下的藻体直接取样,在氙灯脉冲调制荧光仪(XE-PAM, Walz, 德国)下测定培养状态下的有效光化学效率 Yield 值。将各 pH 下处理 24 小时后的藻体置于太阳模拟器下进行可见光(PAR)及可见光加紫外线 A 加紫外线 B(PAB)辐射处理 1 小时,处理过程中每隔 15 分钟对其 Yield 进行测定,共测定 4 轮。其中饱和脉冲光强设定为 5000 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>,饱和脉冲持续时间设定为 0.8 s。

Yield 的计算方法如下:

$$\text{Yield} = F_m' - F_0 / F_m'$$

其中 Yield 代表光系统 II 的有效光化学效率, $F_0$ 代表本底叶绿素荧光,而  $F_m'$  则为在预设的光化光背景下的最大叶绿素荧光。

### 1.2.7 数据统计分析

数据处理使用 Origin 7.0 和 SPSS 16.0 软件,显著性分析使用 one-way ANOVA (Turkey), two/three-way ANOVA 用于分析因子间的相互作用,显著性水平  $P$  设置为 0.05。

相对于初始的 Yield,阳光模拟器下 PAR 及 PAB 导致的光化学效率 Yield 的抑制率计算方式如下:

$$\text{Inh}_{\text{PAR}} = (P_{\text{Initial}} - P_{\text{PAR}}) / P_{\text{Initial}} \times 100\%$$

$$\text{Inh}_{\text{PAB}} = (P_{\text{Initial}} - P_{\text{PAB}}) / P_{\text{Initial}} \times 100\%$$

$\text{Inh}_{\text{PAR}}$  及  $\text{Inh}_{\text{PAB}}$  表示照射 PAR 及 PAB 1 小时后相对于  $P_{\text{Initial}}$  (初始 Yield 值) 的抑制率, $P_{\text{PAR}}$  及  $P_{\text{PAB}}$  表示 P 及 PAB 下的 Yield。

## 2 结果

### 2.1 色素

铜绿微囊藻 905 叶绿素 a 和类胡萝卜素含量随模拟酸雨处理呈增加趋势,相对于 pH7.10 处理,pH5.65 处理下藻体叶绿素 a 及类胡萝卜素含量显著升高了 11.33% ( $P < 0.05$ ) 和 4.22% ( $P < 0.05$ ),pH 4.50 处理下显著升高了 61.26% ( $P < 0.05$ ) 和 20.75% ( $P < 0.05$ ),紫外吸收物质 UVACs 在各 pH 处理下无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 1)。

铜绿微囊藻 469 叶绿素 a 含量在低 pH (pH 4.50) 下显著增加了 20.95% ( $P < 0.05$ ),而类胡萝卜素含量显著降低了 67.5% ( $P < 0.05$ ),三个 pH 处理下紫外吸收物质含量差异显著 ( $P < 0.05$ ),其中 pH5.65 处理下最高 (0.44±0.04),pH4.50 处理下最低 (0.10±0.02) (图 1)。

对比两藻种间色素水平,除 pH7.10 下叶绿素 a 含量在两藻株间无显著性差异外 ( $P > 0.05$ ),其余 pH 处理下,叶绿素 a、类胡萝卜素及紫外吸收物质含量在铜绿微囊藻 905 中含量都显著高于 469 株 ( $P < 0.05$ )。pH 5.65 下,905 株系叶绿素 a、类胡萝卜素及紫外吸收物质含量显著高于 469 株系 8.36% ( $P < 0.05$ ),34.00% ( $P < 0.05$ ) 和 153.29% ( $P < 0.05$ );pH 4.50 下,则分别提高了 0.214 ( $P < 0.05$ ),3.30 ( $P < 0.05$ ) 和 11.23 ( $P < 0.05$ ) 倍 (图 1)。

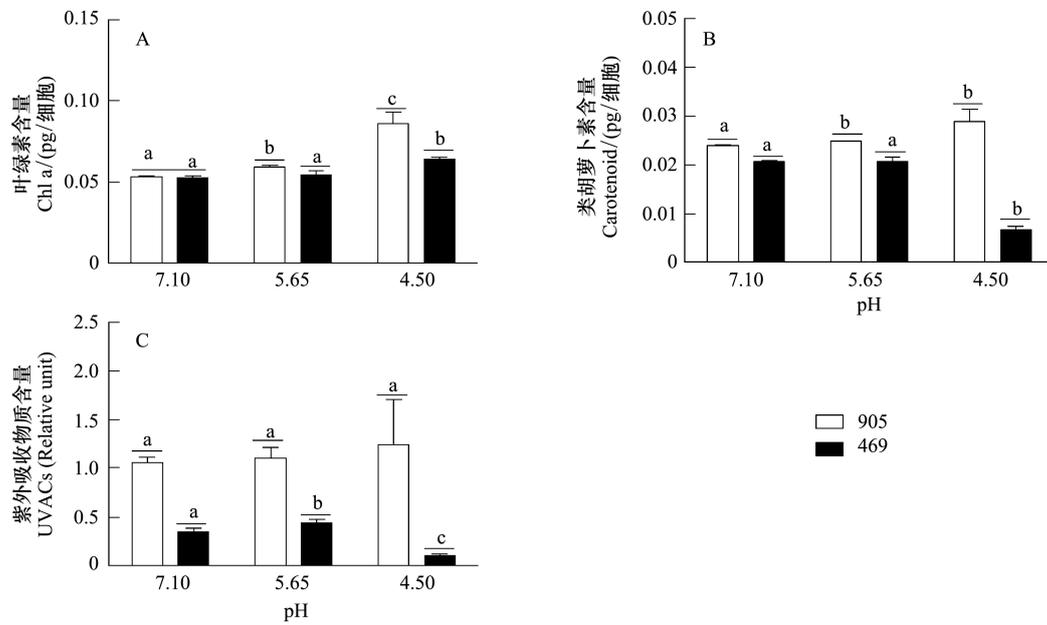


图1 铜绿微囊藻 469 与 905 在 pH 7.10 以及模拟酸雨 (pH5.65 及 pH4.50) 处理下 24 小时后叶绿素 a (A)、类胡萝卜素 (B) 以及紫外吸收物质 (C) 含量 ( $n=3$ )

Fig. 1 Chl a (A), carotenoid (B) and UVACs (C) of *Mycrocystis aeruginosa* strains of 469 and 905 after cultured under pH 7.10 and simulated acid rain (pH5.65 and pH4.50) condition for 24h ( $n=3$ )

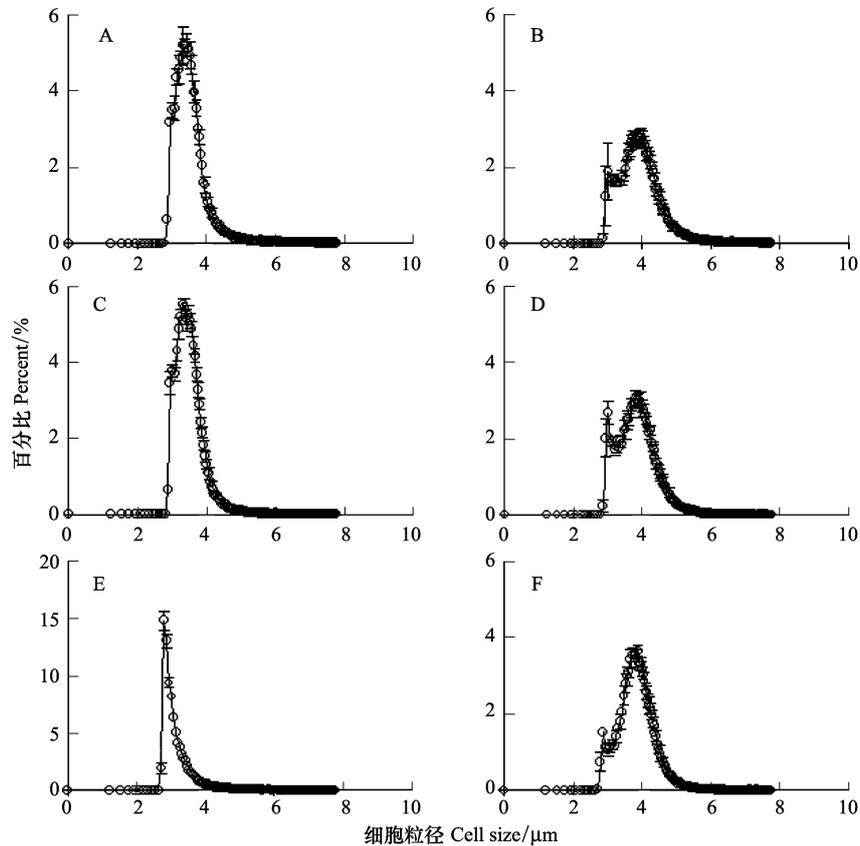


图2 铜绿微囊藻 469 (A, C, E) 与 905 (B, D, F) 在培养条件下 (A, B) 以及模拟酸雨 pH 为 5.65 (C, D) 及 4.50 (E, F) 下 24 小时后细胞粒径分布图 ( $n=3$ )

Fig. 2 The cell size of *Mycrocystis aeruginosa* strains of 469 and 905 under culture condition and after treated with simulated acid rain at pH of 5.65 (C, D) and 4.50 (E, F) for 24h ( $n=3$ )

## 2.2 细胞粒径和体积

正常培养条件下 (pH7.10), 铜绿微囊藻 469 和 905 的细胞粒径和体积差异显著 (图 2 A, B), 平均粒径分别为  $3.76 \pm 0.00 \mu\text{m}$  和  $4.17 \pm 0.05 \mu\text{m}$  (图 3 A), 平均体积分别为  $31.76 \pm 0.27 \text{ fL}$  和  $41.87 \pm 1.19 \text{ fL}$ 。与对照组 pH7.10 相比, 经模拟酸雨处理后, 在 pH5.65 下, 469 细胞粒径和体积显著降低了 2.70% ( $P < 0.05$ ) 和 11.96% ( $P < 0.05$ ), 905 则显著降低了 3.19% ( $P < 0.05$ ) 和 11.19% ( $P < 0.05$ ); 在 pH4.50 下, 469 细胞粒径和体积显著降低了 11.39% ( $P < 0.05$ ) 和 29.93% ( $P < 0.05$ ), 905 显著降低了 3.99% ( $P < 0.05$ ) 和 14.55% ( $P < 0.05$ ) (图 3)。

对比 469 和 905, 各 pH 处理下 905 藻体细胞粒径和体积显著高于 469 细胞 ( $P < 0.05$ )。

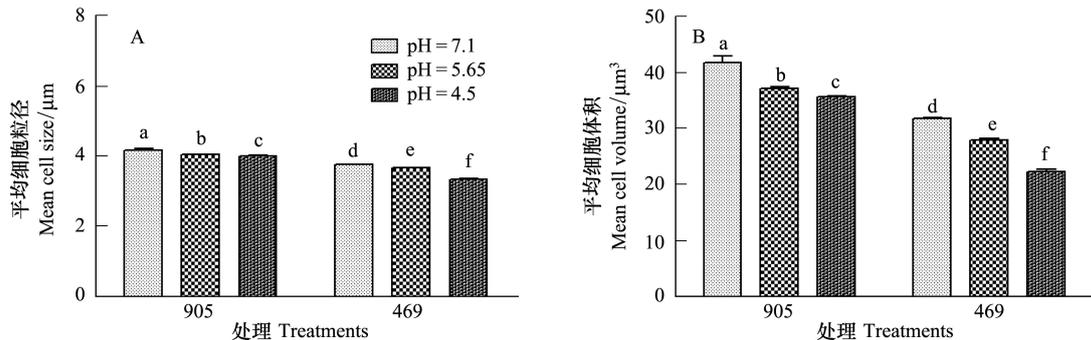


图 3 铜绿微囊藻 469 与 905 在 pH 7.10 以及模拟酸雨 (pH5.65 和 pH4.50) 处理下 24 小时细胞平均粒径大小 (A) 及平均细胞体积 (B) ( $n=3$ )

Fig. 3 The mean cell size (A) and mean cell volume (B) of *Mycrocystis aeruginosa* strains of 469 and 905 after cultured under pH 7.10 and simulated acid rain (pH 5.65 and pH4.50) condition for 24h ( $n=3$ )

## 2.3 生长速率

铜绿微囊藻 469 和 905 在经不同 pH 的模拟酸雨处理后, 生长速率都显著降低。相对于 pH 7.10 处理, pH5.65 下生长速率在 905 和 469 下分别降低了 111.12% ( $P < 0.05$ ) 和 74.41%, pH 4.50 下则分别降低了 144.77% 和 142.17% (图 4)。

对比 469 与 905, pH5.65 下 469 细胞生长速率呈负增长, 905 生长速率显著高于 469 (3.92 倍,  $P < 0.05$ ) (图 4)。通过显微镜下对各 pH 处理的细胞形态进行观察, 发现模拟酸雨处理导致 469 和 905 藻体细胞破裂或变形。

## 2.4 光化学效率

各 pH 下培养 24 小时后, 相对于 905 株系, 469 株系藻体有效光化学效率显著高于 905 株系, 在 pH 为 7.10 和 5.65 下分别增加了 22.62% ( $P < 0.05$ ) 和 4.74% ( $P < 0.05$ ); 然而, 在 pH 4.50 下藻体 Yield 显著低于 905 株系, 降低了 44.90% ( $P < 0.05$ ) (图 5)。

将各 pH 下培养的藻体置于阳光模拟器下, 经 P 及 PAB 辐射处理 1 小时过程中 Yield 的变化曲线在两株系间呈不同趋势。905 藻体在 P 及 PAB 下, 随培养 pH 的降低, Yield 呈缓慢降低趋势, 各 pH 处理间 Yield 差异显著 (多因素方差分析,  $P < 0.001$ )。在 469 株系中, 藻体经 P 及 PAB 辐射处理 1 小时过程中, 初始的 15 分钟辐射处理, Yield 在各 pH 下都呈快速、显著降低趋势 ( $P < 0.05$ ); 在 P 处理下, 较低的 pH (4.50) 处理, 藻体 Yield 显著低于 pH7.10 和 5.65 处理组, 而在 PAB 辐射处理下, 各 pH 下培养的藻体 Yield 进一步地降低 (多因素方差分析,  $P < 0.001$ ) (图 5)。

通过对两株系在各 pH 及两辐射处理下 Yield 的比值进行计算可得, 无论是 P 处理还是 PAB 处理, 905 株

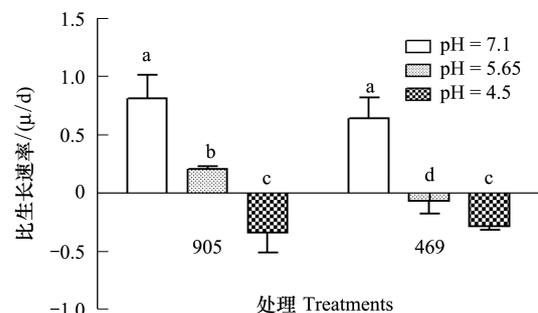


图 4 铜绿微囊藻 469 与 905 在 pH 7.10 以及模拟酸雨 (pH5.65 及 pH4.50) 处理下 24 小时的生长速率 ( $n=3$ )

Fig. 4 The growth rate of *Mycrocystis aeruginosa* strains of 469 and 905 after cultured under pH 7.10 and simulated acid rain (pH5.65 and pH4.50) condition for 24h ( $n=3$ )

系藻体 *Yield* 都要显著高于 469 株系(比值大于 1),且随 pH 的降低,比值逐渐升高(图 6)。

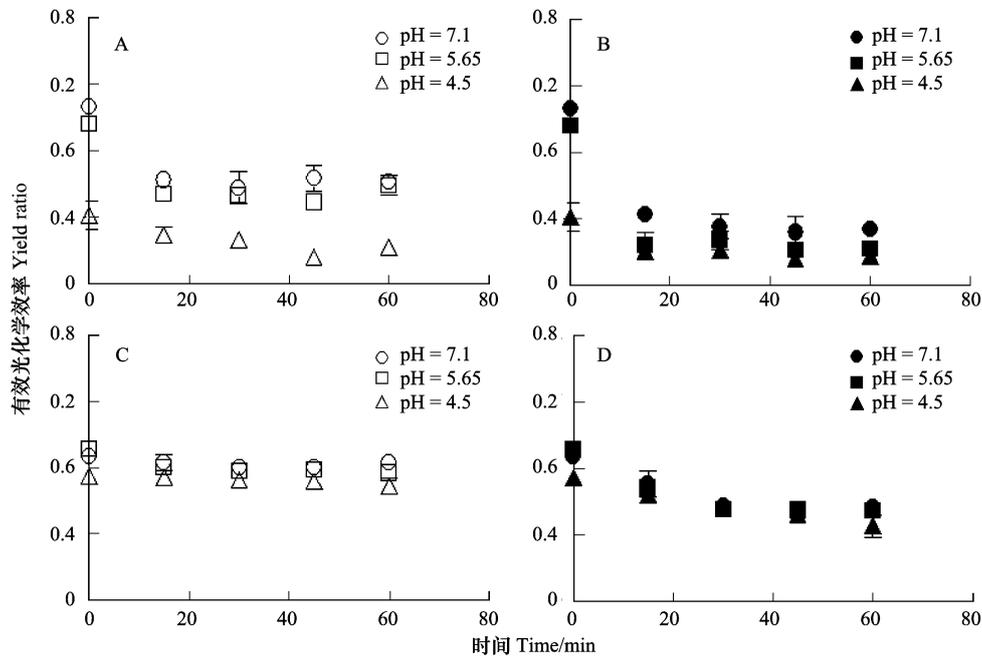


图 5 铜绿微囊藻 469 (A, B) 与 905 (C, D) 在 pH 7.10 以及模拟酸雨 (pH5.65 及 pH4.50) 处理下 24 小时后置于阳光模拟器下给予可见光 (P) (A, C) 及可见光+紫外线 A+紫外线 B (PAB) (B, D) 辐射处理 1 小时过程中有效光化学效率的变化情况 ( $n=3$ )

Fig. 5 The Yield value of 469 (A, B) and 905 (C, D) strain of *Mycrocystis aeruginosa* cultured under pH 7.10 and simulated acid rain (pH5.65 and pH4.50) condition for 24h when transferred to P (A, C) and PAB (B, D) for 1 hour exposure ( $n=3$ )

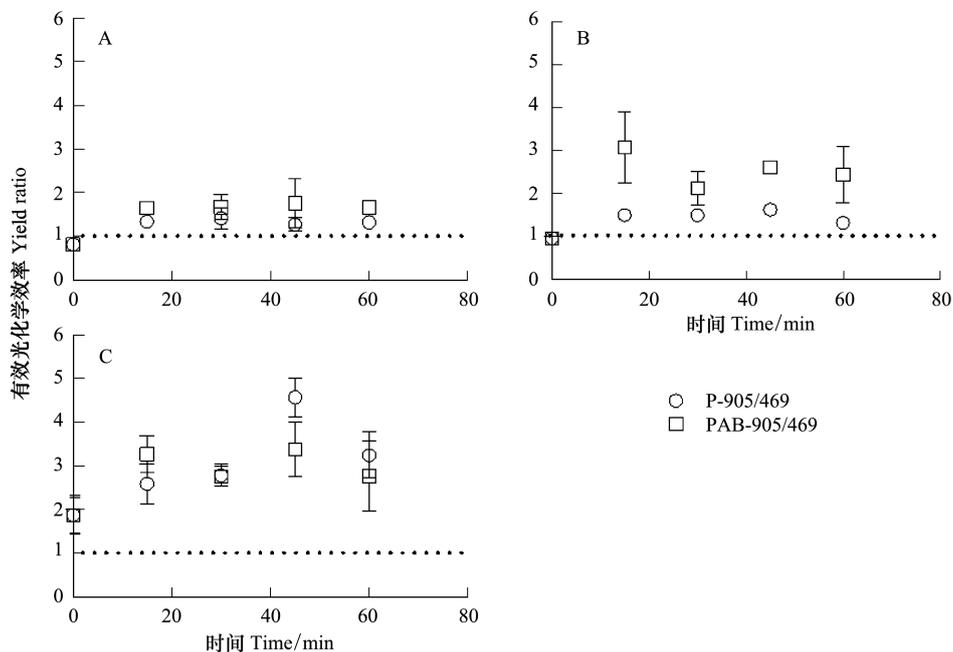


图 6 铜绿微囊藻 469 与 905 在 pH 7.10 (A) 以及模拟酸雨 pH5.65 (B) 及 pH4.50 (C) 下处理 24 小时后,置于阳光模拟器下给予可见光 (P) 及可见光+紫外线 A+紫外线 B (PAB) 辐射处理 1 小时过程中有效光化学效率的比值。虚线表示比值为 1 ( $n=3$ )

Fig. 6 The Yield ratio of *Mycrocystis aeruginosa* strains of 469 and 905 cultured under pH of 7.10 (A) and simulated acid rain with pH5.65 (B) and pH4.50 (C) condition for 24h when transferred to P and PAB for 1 hour exposure. The dot line represent the ratio value at 1 ( $n=3$ )

图 7 显示的是 pH 7.10, 5.65 及 4.50 下两株系经 P 及 PAB 辐射处理后 *Yield* 的抑制率(与各自培养条件

下的 *Yield* 进行比较)。结果显示低 pH(4.50)培养的藻体,无论是 905 株系还是 469 株系,辐射处理导致的抑制率都呈升高趋势(图 7 A, B),且在各 pH 处理下,P(图 7 A)以及 PAB(图 7 B)辐射处理 1 小时,905 株系的抑制率显著低于 469 株系( $P < 0.05$ )。

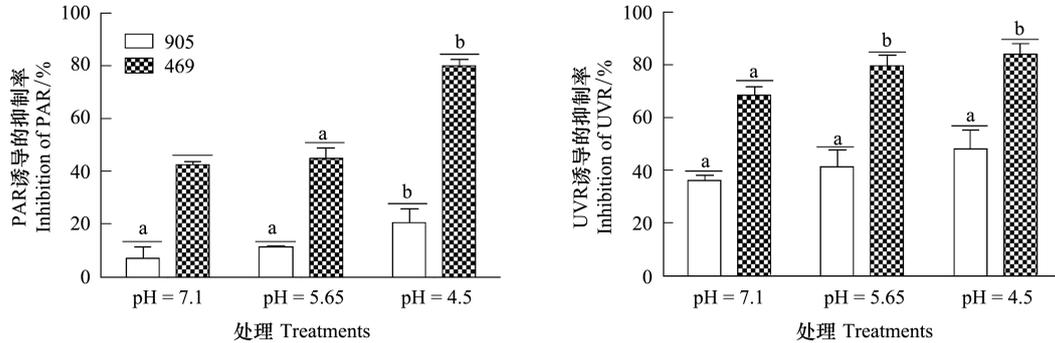


图 7 铜绿微囊藻 469 与 905 在 pH 7.10 以及模拟酸雨 pH5.65 及 pH4.50 处理下 24 小时后,置于阳光模拟器下给予可见光 (P) 及可见光+紫外线 A+紫外线 B (PAB) 辐射处理 1 小时,与初始 *Yield* 值相比,P (A) 及 PAB (B) 诱导的抑制率 ( $n=3$ )

Fig. 7 P (A) and PAB (B) induced inhibition rate of *Mycrocystis aeruginosa* strains of 469 and 905 cultured under pH of 7.10 and simulated acid rain with pH5.65 and pH4.50 condition for 24h when transferred to P and PAB for 1 hour exposure ( $n=3$ )

### 3 讨论

微囊藻是我国多数湖泊(如太湖、巢湖、滇池等)发生水华时的优势种<sup>[26]</sup>,包括产毒株和不产毒株,其中产生毒素的微囊藻类群通过释放各种类型的微囊藻毒素,影响水体其他生物代谢活动,并可对人类赖以生存的饮用水源产生潜在影响<sup>[27]</sup>。以往的原位观测研究表明微囊藻水华发生时多以产毒类型为主<sup>[22]</sup>,究其原因可能与不同类型的藻株对环境变化的适应能力不同导致,产毒与不产毒株系对环境变化的适应能力,可能是决定各微囊藻类群在自然界的分布和丰度的主要因素。因而,在全球气候变化背景下从生理学的角度比较研究不同类型水华蓝藻响应两种环境胁迫(酸雨,UV)的异同,具有较高的研究价值。

本研究结果显示,铜绿微囊藻 905 与 469 在模拟酸雨处理下细胞粒径变小,叶绿素含量升高,光化学效率显著降低,并在高光及紫外辐射下表现为进一步地降低;同时两藻株对酸雨及紫外辐射的耐受能力有着显著差异,表现为 905 藻株更为耐受酸雨胁迫以及紫外辐射。

多数研究表明酸雨可影响浮游植物群落结构<sup>[8]</sup>,然而涉及酸雨对水体典型浮游植物光合生理影响的研究,报导较少。本研究发现,酸雨处理可显著降低细胞粒径和体积,而单位细胞叶绿素含量显著升高。早期研究表明在长期酸性胁迫下,浮游植物叶绿素含量显著受到抑制<sup>[28]</sup>;然而也有研究表明  $H_2SO_4$  型湖泊中,中尺度的酸化可导致叶绿素 b、脱镁叶绿素、叶黄素含量在硅藻、甲藻、绿藻中呈增加趋势,但在极度酸化下类胡萝卜素、叶绿素 a、脱镁叶绿素则显著降低<sup>[29]</sup>。通过对细胞生长速率的计算以及显微镜下观察,推测单位细胞叶绿素含量的升高(累积)可能是由于瞬时的酸雨胁迫处理导致细胞分裂速率延缓所引起。通常水体中浮游植物经历恒定的 pH 变化范围(日变化),酸雨引起的水体  $H^+$  浓度增加(瞬时酸性胁迫),可影响浮游植物细胞内外的酸碱平衡,例如一些研究发现水体 pH 降低( $H^+$  浓度增加)可提高浮游植物的能量消耗<sup>[30]</sup>,导致细胞呼吸速率在酸性环境下显著升高<sup>[31]</sup>,从而可能使细胞生长速率受到抑制。相比于 pH7.10 处理,在 pH5.65 处理下,905 藻株生长速率的降低程度低于 469 藻株,暗示该藻株对水体酸化的耐受性较高。

酸雨发生的同时,可导致水体溶解有机质含量降低,使阳光紫外辐射的透射深度增加,因而酸雨诱导的水体生态系统的改变,与水体紫外辐射的增强有着极大联系<sup>[16]</sup>。其中紫外波段的光,尤其是 UVB 部分,可显著抑制浮游植物的光合作用速率<sup>[32]</sup>,降低光合固碳量<sup>[33]</sup>。紫外辐射增强对水体蓝藻的影响已开展较多研究,内容主要包括 UVB 辐射对生物大分子的损伤效应<sup>[34]</sup>,对藻体细胞形态<sup>[19]</sup>、光合色素<sup>[35]</sup>、生长<sup>[20]</sup>、固氮<sup>[36]</sup>、光系统的损伤与修复<sup>[21]</sup>等方面的效应,然而从酸雨与 UV 辐射的耦合效应的角度对铜绿微囊藻进行研究,尚

未见相关报道。本文的研究表明紫外辐射显著抑制了两株铜绿微囊藻的有效光化学效率,UV 辐射导致的光合活性降低在其他蓝藻中也有发现,例如聚球藻经高强度的 UVB 辐射处理后,藻体 PSII 活性下降,表现为电子传递速率显著受到抑制<sup>[37]</sup>。UV 辐射导致的光合活性的降低,最终可使蓝藻生长速率受到抑制,这种降低的生长速率在念珠藻、织线藻以及隐杆藻中都有发现<sup>[20]</sup>。经酸雨胁迫处理后,藻体对紫外辐射的敏感性显著增加(*Yield* 降低,抑制率增加),表明酸雨与 UV 辐射的耦合可进一步降低浮游植物的光合能力。然而,在响应高光强以及紫外辐射时,905 和 469 藻株光合能力表现出明显的差异(469 抑制率更高,更为敏感),表明 905 藻株更为耐受紫外辐射的胁迫,这一耐受性可能与藻体较高的光保护色素含量有着直接关系<sup>[38]</sup>。本研究结果也表明,905 藻株类胡萝卜素以及紫外吸收物质的含量在各 pH 处理下都显著高于 469 藻株,且酸雨胁迫促进(类胡萝卜素)或并未(紫外吸收物质)影响光保护色素的含量。另一方面,光系统反应中心蛋白(D1/D2)在经历高光强或高的 UV 辐射后,其损伤后修复速率的快慢<sup>[39]</sup>,也是决定二者对 UV 辐射敏感性不同的另一个可能因素,通过对 PSII 活性(*Yield*)的差异进行比较可以看出,905 较 469 可能具有较高的 D1/D2 蛋白周转速率。

在未来全球变化背景下,随着酸雨的持续影响以及阳光紫外辐射的增强,淡水水体浮游植物将会面临复杂的环境变化,这些环境因子共同作用,对浮游植物的光合生理以及群落结构都将会产生很大的影响,这种影响在很大程度上取决于不同藻体对这些环境变化的响应。本研究中,酸雨及紫外辐射处理对两株藻体的光合生理都产生了较大影响,然而 905 藻株较强的耐受酸雨以及紫外辐射的能力,可能会使该株系成为淡水水体主要的优势种。未来,结合环境变化研究铜绿微囊藻不同株系之间以与其他浮游植物类群间的关系对预测水体浮游植物群落结构变动具有一定的指导意义。

**致谢:**感谢温州大学马增岭副教授惠赠藻株,感谢淮海工学院徐军田副教授在论文写作上的帮助。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Felten V, Tixier G, Guérolod F. Acid rain ecotoxicity // Féraud J F, Blaise C. Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology. The Netherlands: Springer, 2013: 1-14.
- [ 2 ] Schindler D W. Effects of acid rain on freshwater ecosystems. *Science*, 1988, 239(4836): 149-157.
- [ 3 ] Poléo A B S. Aluminium polymerization-a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquatic Toxicology*, 1995, 31(4): 347-356.
- [ 4 ] Gensemer R W, Playle R C. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1999, 29(4): 315-450.
- [ 5 ] Verbost P M, Van Rooij J, Flik G, Lock R A C, Bonga S E W. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and its interference with calcium transport. *Journal of Experimental Biology*, 1989, 145(1): 185-197.
- [ 6 ] Jensen F B, Malte H. Acid-base and electrolyte regulation, and haemolymph gas transport in crayfish, *Astacus astacus*, exposed to soft, acid water with and without aluminium. *Journal of Comparative Physiology B*, 1990, 160(5): 483-490.
- [ 7 ] Manny B A, Fahnenstiel G L, Gardner W S. Acid rain stimulation of Lake Michigan phytoplankton growth. *Journal of Great Lakes Research*, 1987, 13(2): 218-223.
- [ 8 ] Raut R, Sharma S, Bajracharya R M. Biotic response to acidification of lakes-A review. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 2012, 8(1): 171-184.
- [ 9 ] Lessmann D, Fyson R, Nixdorf B. Phytoplankton of the extremely acidic mining lakes of Lusatia (Germany) with pH<sub>0</sub> s. *Hydrobiologia*, 2000, 433(1-3): 123-128.
- [ 10 ] 姜海波. UV-B 增强对水华蓝藻铜绿微囊藻的长期和短期效应及其光合作用适应 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2005.
- [ 11 ] Beardall J, Sobrino C, Stojkovic S. Interactions between the impacts of ultraviolet radiation, elevated CO<sub>2</sub>, and nutrient limitation on marine primary producers. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2009, 8(9): 1257-1265.
- [ 12 ] Torremorell A, Bustigorry J, Escaray R, Zagarese H E. Seasonal dynamics of a large, shallow lake, laguna Chascomús: The role of light limitation and other physical variables. *Limnologia-Ecology and Management of Inland Waters*, 2007, 37(1): 100-108.
- [ 13 ] Manney G L, Santee M L, Rex M, Livesey N J, Pitts M C, Veefkind P, Nash E R, Wohltmann I, Lehmann R, Froidevaux L, Poole L R, Schoeberl M R, Haffner D P, Davies J, Dorokhov V, Gernandt H, Johnson B, Kivi R, Kyrö E, Larsen N, Levelt P F, Makshtas A, McElroy C T, Nakajima H, Parrondo M C, Tarasick D W, von der Gathen P, Walker K A, Zinoviev N S. Unprecedented Arctic ozone loss in 2011. *Nature*, 2011, 478(7370): 469-475.
- [ 14 ] Zepp R G, Erickson Iii D J, Paul N D, Sulzberger B. Effects of solar UV radiation and climate change on biogeochemical cycling: interactions and

- feedbacks. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2011, 10(2): 261-279.
- [15] Häder D-P, Helbling E W, Williamson C E, Worrest R C. Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2011, 10(2): 242-260.
- [16] Schindler D W, Curtis P J, Parker B R, Stainton M P. Consequences of climate warming and lake acidification for UV-B penetration in North American boreal lakes. *Nature*, 1996, 379(6567): 705-708.
- [17] Beardall J, Stojkovic S, Gao K S. Interactive effects of nutrient supply and other environmental factors on the sensitivity of marine primary producers to ultraviolet radiation; implications for the impacts of global change. *Aquatic Biology*, 2014, 22:5-23.
- [18] Whitton B A, Potts M. Introduction to the cyanobacteria // Whitton B A, Potts M. *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in the Time and Space*. Netherlands: Springer, 2000: 1-11.
- [19] Ma Z L, Gao K S. Photoregulation of morphological structure and its physiological relevance in the cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Planta*, 2009, 230(2): 329-337.
- [20] Zeeshan M, Prasad S. Differential response of growth, photosynthesis, antioxidant enzymes and lipid peroxidation to UV-B radiation in three cyanobacteria. *South African Journal of Botany*, 2009, 75(3): 466-474.
- [21] Jiang H B, Qiu B S. Inhibition of photosynthesis by UV-B exposure and its repair in the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 2011, 23(4): 691-696.
- [22] 徐瑶. 富营养化水体微囊藻分子生态研究-以太湖和秦淮河为例[D]. 南京: 南京师范大学, 2011.
- [23] Porra R J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 2002, 73(1-3): 149-156.
- [24] Parsons T R, Strickland J D H. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *Journal of Marine Research*, 1963, 21(3): 155-163.
- [25] 徐军田. 经济红藻龙须菜和海萝的光生物学研究[D]. 汕头: 汕头大学, 2008.
- [26] 闫海, 潘纲, 张明明. 微囊藻毒素研究进展. *生态学报*, 2002, 22(11): 1968-1975.
- [27] Codd G A, Bell S G, Brooks W P. Cyanobacterial toxins in water. *Water Science & Technology*, 1989, 21(3): 1-13.
- [28] Kwiatkowski R E, Roff J C. Effects of acidity on the phytoplankton and primary productivity of selected northern Ontario lakes. *Canadian Journal of Botany*, 1976, 54(22): 2546-2561.
- [29] Leavitt P R, Findlay D L, Hall R I, Smol J P. Algal responses to dissolved organic carbon loss and pH decline during whole-lake acidification: Evidence from paleolimnology. *Limnology and Oceanography*, 1999, 44(3): 757-773.
- [30] Wu Y P, Gao K S, Riebesell U. CO<sub>2</sub>-induced seawater acidification affects physiological performance of the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Biogeosciences*, 2010, 7(9): 2915-2923.
- [31] Li W, Gao K S, Beardall J. Interactive effects of ocean acidification and nitrogen-limitation on the diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Plos One*, 2012, 7(12): e51590.
- [32] Guan W C, Gao K S. Impacts of UV radiation on photosynthesis and growth of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae). *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 67(3): 502-508.
- [33] Li G, Gao K S, Gao G. Differential impacts of solar UV radiation on photosynthetic carbon fixation from the coastal to offshore surface waters in the South China Sea. *Photochemistry and Photobiology*, 2011, 87(2): 329-334.
- [34] Sinha R P, Dautz M, Häder D P. A simple and efficient method for the quantitative analysis of thymine dimers in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae. *Acta Protozoologica*, 2001, 40(3): 187-196.
- [35] Ehling-Schulz M, Bilger W, Scherer S. UV-B-induced synthesis of photoprotective pigments and extracellular polysaccharides in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(6): 1940-1945.
- [36] Kumar A, Tyagi M B, Jha P N, Srinivas G, Singh A. Inactivation of cyanobacterial nitrogenase after exposure to ultraviolet-B radiation. *Current Microbiology*, 2003, 46(5): 380-384.
- [37] Prabha G L, Kulandaivelu G. Induced UV-B resistance against photosynthesis damage by adaptive mutagenesis in *Synechococcus* PCC 7942. *Plant Science*, 2002, 162(5): 663-669.
- [38] Chen S W, Gao K S. Solar ultraviolet radiation and CO<sub>2</sub>-induced ocean acidification interacts to influence the photosynthetic performance of the red tide alga *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae). *Hydrobiologia*, 2011, 675(1): 105-117.
- [39] Wu H Y, Abasova L, Cheregi O, Deák Z, Gao K, Vass I. D1 protein turnover is involved in protection of Photosystem II against UV-B induced damage in the cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2011, 104(1-2): 320-325.