

紫外辐射对浒苔游孢子附着、萌发和幼苗生长的影响

李信书^{1,2}, 冯子慧¹, 霍元子¹, 徐军田², 何培民^{1*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 淮海工学院江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏 连云港 222005)

摘要: 为了探讨绿潮藻浒苔游孢子对紫外线(UVR)的敏感性, 研究了相对于有效光辐射(PAR, P)增加 UVA 辐射(PAR + UVA, PA)和全波长辐射(PAR + UVA + UVB, PAB)对浒苔游孢子的光合效率、附着、萌发和幼苗生长的影响。实验结果表明, (1) 强光[900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]下 PA 和 PAB 辐射对浒苔游孢子的最大光化学效率(Fv/Fm)具有明显抑制作用, 且辐射时间越长抑制作用越大。强光下 PA 和 PAB 辐射 15、30、60 min 导致浒苔游孢子最大光化学效率分别下降为 28.4%、42.4%、36.5%、52.1%、64.4%、54.5%; (2) 游孢子在 15 min 辐射期间的附着率分别为 50.0% (P)、44.9% (PA) 和 23.9% (PAB), 紫外辐射尤其是 UVB 显著抑制(延迟)了孢子的附着($P < 0.05$), 但对 24 h 后孢子的总附着率没有显著影响。不同辐射处理和辐射时间之间存在显著交互作用($P < 0.05$); (3) 阳光下 PA 和 PAB 对孢子萌发具有显著抑制作用, 第 3 天 PA 和 PAB 处理的游孢子萌发率分别为 P 处理的 57.0% 和 39.1%, 孢子的萌发存活决定于最初的 3 d, 3 d 后的紫外辐射对幼苗的存活没有显著影响($P > 0.05$); (4) 阳光下 PA 和 PAB 对浒苔幼苗生长有显著抑制作用, 第 5 天大于 4 细胞的幼苗比例分别为 P:72.9%; PA:14.3%; PAB:10.1%。PA、PAB 对游孢子苗面积生长的抑制率分别为 46.2% 和 68.1%。可见 UVR 对浒苔游孢子的光合效率、附着时间、萌发和幼苗生长具有显著抑制作用, 且 PAB 抑制作用比 PA 更强。以上结果显示, UVR 影响浒苔的早期发育和存活, 对浒苔种群的发生发展有重要影响。

关键词: 浒苔; 游孢子; 紫外辐射; 最大光化学效率; 附着; 萌发; 幼苗生长

中图分类号: S 917.3; Q 945.3

文献标识码: A

“绿潮”是由于绿藻等海藻大量繁殖所引起的一种异常生态现象, 对生态环境和社会环境都会造成严重的影响^[1]。从 2007 年开始, 我国黄海(青岛海域)大面积暴发绿潮, 其中 2008 年 5-7 月间, 在我国青岛奥帆基地附近海域暴发了大规模“绿潮”灾害, 引起了世人广泛关注^[2], 浒苔漂浮涉及海域面积达 2.9 万多平方公里, 据初步估计浒苔漂浮生物量达 100 多万吨^[3]。2009 年、2010 年黄海海域“绿潮”继续暴发, 这是大自然对我们人类破坏海洋环境的严重警示。

2008 年“绿潮”藻主要种类已被鉴定为浒苔属的浒苔 [*Enteromorpha prolifera* (Müller) J.

Agardh]^[4-5], 目前国际上已把浒苔属并入到石莼属, 称为 *Ulva prolifera* O. F. Müller^[1,5]。浒苔是一种很有开发前途的药用保健食品^[6], 许多国家早已进行了浒苔人工育苗和栽培, 它与缘管浒苔(*U. linza*)和肠浒苔(*U. intestinalis*)等被认为是重要的浒苔属栽培种类^[7]。我国浙江和福建沿海渔民早已食用自然生长的浒苔, 并也已开始了人工养殖^[2]。

浒苔生活史为同形世代交替, 繁殖方式有性生殖和无性生殖^[8]。浒苔暴发与其独特繁殖方式息息相关, 释放出的大量孢子一旦遇到适宜条件很可能引起绿潮暴发^[1]。已有不少关于

收稿日期:2010-04-14 修回日期:2010-08-19

资助项目:国家海洋局绿潮专项;上海市科委浦江人才计划项目(05PJ14086);上海市水生生物学重点学科资助项目(S30701)

通讯作者:何培民, Tel:021-61900457, E-mail:pmhe@shou.edu.cn

浒苔光合特性^[9-10]及孢子囊的成熟机制^[11]的研究,而对浒苔游孢子光合特性的研究尚未见报道。大量研究已表明,紫外辐射(ultraviolet radiation, UVR)对大型海洋藻类孢子运动^[12]、光合作用^[13]、DNA 损伤^[14]、光合色素组成^[15]、营养盐代谢^[16-17]以及活性氧的产生^[18]、繁殖^[19]等具有很大的影响作用。进一步的研究发现,UVR 对海藻不同生活史阶段的影响存在差异,其中幼体或微观阶段对 UVR 损伤更为敏感^[20]。因此,对幼体或微观阶段的研究尤为重要,它们的存活力与生长力,将决定该种藻能否在沿岸建立和繁殖起来,并决定其生产力的大小。

本文研究了浒苔孢子体释放的游孢子对 UVR 的敏感性以及 UVR 对游孢子附着、萌发和幼体生长影响,旨在增加对浒苔繁殖生物学的认识和理解。

1 材料与方法

1.1 样品采集培养

浒苔于 2008 年 7 月 5 日取自青岛栈桥附近的绿潮现场,用保温箱运回上海的实验室,用消毒海水反复冲洗后,于温度 15 °C,光照 35 ~ 45 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光周期 12L: 12D 的光照培养箱中充气培养,采用 VSE 培养液,每隔 4 ~ 5 天更换一次培养液,具体方法参考文献[21]中的方法。经过培养的浒苔样品于 2009 年 1 月用保温箱运到广东汕头大学海洋生物研究所,于室温(18 ~ 22 °C)、自然光[20 ~ 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]下培养,其它条件同上。

1.2 游孢子的获得

挑选单株藻体分别置于盛有 200 mL VSE^[22]培养液的 500 mL 三角烧瓶中,放在窗口附近,静止培养,不时摇动,光强中午前后为 100 ~ 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,一般经过 1 ~ 3 d,在上午 9 时左右可见孢子大量释放。吸取少量孢子液,在显微镜下确认为 4 鞭毛的游孢子后,将孢子液适当稀释,迅速进行下列实验。

1.3 紫外线辐射的设置

将孢子液置于 6 孔板中,每孔 3 mL。实验在太阳模拟器(Sol 1200W, Dr. Hönle, Martinsried, Germany)下进行,太阳模拟器的辐射光谱见文献[23]。设置光强 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 900

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,此时紫外辐射剂量分别为 UVA: 6.63 W/m², UVB: 0.23 W/m² 和 UVA: 19.9 W/m², UVB: 0.68 W/m²。覆盖不同的光学滤膜来获得以下辐射处理:(1) PAB 处理,使样品接受 PAR + UVA + UVB 辐射;(2) PA 处理,以滤除 UVB,使样品接受 PAR + UVA 辐射;(3) P 处理,以滤除 UVR,使样品仅接受光合有效辐射(PAR)^[24]。光学滤膜的透光特性见文献[25]。室外即时的阳光辐射和太阳模拟器的辐射,采用 ELDONET 辐射计(Real Time Computers, Erlangen, Germany)来连续或即时测定^[26]。

1.4 游孢子光合荧光的测量

用水样荧光仪(PAM-Water-ED, Walz, Effeltrich, Germany)测定暗适应样品 PS II 的最大光化学效率(Fv/Fm)^[27]。测定时的环境温度为 20 °C。分别在辐射处理 15、30 和 60 min 时取 1 mL 样品测定。每个处理设 3 个平行。用 polyscience 循环水浴(Eyela, CAP-3000, Tokyorikakikai Co. Ltd., Tokyo, Japan)控温,温度控制为 20 °C。

1.5 孢子的附着

将刚释放的游孢子用 VSE 培养液稀释为 50 000 ind/mL 左右,分别吸取该孢子液 1 mL 置于 24 孔板各孔中,上覆不同滤膜获取 P、PA、PAB 的辐射处理。在太阳模拟器下进行辐射处理,温度控制为 20 °C,设置光强 900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。实验分为两组,一组直接在 24 孔板的小孔中垂直放入洗净的 10 mm × 15 mm 的盖玻片,然后进行辐射处理;另一组先不放盖玻片,待辐射处理后立即将洗净的 10 mm × 15 mm 的盖玻片,垂直放入孔中。辐射处理时间分别为 5、10 和 15 min。然后连同垂直放入的盖玻片用铝箔包裹 24 孔板,使未附着的孢子在黑暗中于 20 °C 培养箱中随机附着。24 h 后在显微镜下计数盖玻片上孢子的附着数,计数前将盖玻片用镊子夹取,在灭菌海水中震荡数次,洗去未附着的孢子。每个处理设 3 个平行,每个盖玻片计数 10 个视野。

1.6 附着孢子的萌发和孢子苗的生长

将刚释放的游孢子用 VSE 培养液稀释为 10 000 ind/mL 左右,吸取该孢子液 20 mL 置于 15 cm 的培养皿中,将洗净的 10 mm × 15 mm 的盖玻片平放在培养皿中,立刻用铝箔包裹培养

皿,使孢子在黑暗中均匀附着。24 h 后取出盖玻片,用灭菌海水冲洗 3 次后置于 10 cm 的培养皿中,放在阳光下测定阳光紫外辐射对其萌发和生长的影响。培养皿上覆不同滤膜获取 P、PA、PAB 的辐射处理。用流动的自来水控制水温,水温昼夜变化范围为 18~23 °C,静止培养,每天更换培养液。分别于第 3 天和第 5 天测定幼苗的细胞数和面积,第 3 天和第 6 天计数萌发的孢子数。用 Zeiss Axioplan 2 显微镜观察计数,并用 Zeiss Axicam 数码相机拍照,通过 Photoshop 9.0 图像处理软件测定幼苗的面积^[28]。每个处理设 3 个平行,每个盖玻片测定 10 棵小苗。

1.7 数据处理

由 UVA 和 UVB 引起的相对抑制率分别通过以下公式计算: $(P_P - P_{PA})/P_P \times 100$, $(P_{PA} - P_{PAB})/P_P \times 100$, P_P 、 P_{PA} 和 P_{PAB} 分别代表只照射 P、PA 或 PAB 时样品的值^[29]。所有测定结果表示为平均数 ± 标准差,用 Origin 7.0 统计软件进行单因子方差分析(ANOVA),检测平均数之间的差异,以 $P=0.05$ 作为差异的显著性水平。

2 结果

2.1 PA 和 PAB 对浒苔游孢子最大光化学效率抑制作用

图 1 为光照强度为 300、900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,PA 和 PAB 对浒苔孢子的最大光化学效率抑制作用的实验结果。

从图 1 可以看出,在相对弱光下[300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$],游孢子在 P 处理下,其最大光化学效率是随时间延长而逐步提高,从辐射 15 min 时的 0.36,到辐射 45 min 时的 0.45,其最大光化学效率提高了 14.0%。PA 和 PAB 处理没有这种趋势,反而在辐射时间达到 60 min 时显示显著抑制效果($P<0.05$),与 P 处理相比,由 UVA 和 UVB 引起的抑制率分别为 17.2% 和 3.05%。

当光照强度为 900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,PA 和 PAB 处理都能显著抑制浒苔孢子的最大光化学效率($P<0.05$),且抑制效应随时间延长而增加。与 P 处理相比,PA 处理中 15、30、60 min 由 UVA 引起的抑制率分别为 28.4%、42.4%、36.5%,PAB 辐射处理中由 UVB 引起的抑制率则分别为 23.7%、21.8% 和 18.0%。各辐射处理间的差异极显著($P<0.01$)

在强光[900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]作用下,在同一处理组中,随着时间的延长,其 Fv/Fm 逐渐下降。在 15、30、60 min, P 处理的 Fv/Fm 从 0.44 到 0.34 再降到 0.23; PA 处理分别为 0.32、0.20 到 0.15; PAB 处理分别为 0.21、0.12 到 0.11。从 15 min 到 60 min, P、PA 和 PAB 处理的 Fv/Fm 分别下降了 47.2%、53.2% 和 49.8%。不同辐射处理和处理时间之间存在明显的交互作用($P<0.01$)。

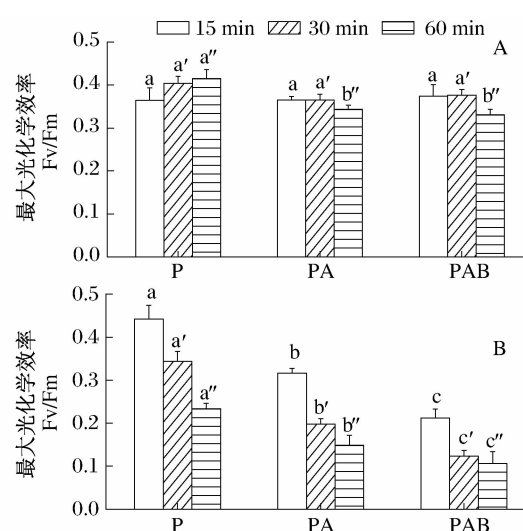


图 1 在弱光[A:300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]和强光[B:900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]下,不同紫外辐射对浒苔游孢子最大光化学效率的影响
Fig. 1 Changes of optimum quantum yield (Fv/Fm) of zoospores with different UV radiation at (A) 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ and (B) 900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($n=3$)

2.2 PA 和 PAB 对浒苔游孢子附着的影响

图 2 为紫外辐射之前或之后放入的盖玻片其表面浒苔游孢子附着密度计数结果,图 2-A 表明,辐射前放入盖玻片,P、PA、PAB 处理组以及各辐射时间组之间 24 h 后总的孢子附着密度没有显著差异($P>0.05$),即表明紫外辐射处理对孢子附着的密度没有明显抑制作用。而图 2-B 中显示辐射后放入的盖玻片其表面孢子附着密度结果,表明紫外辐射后对孢子附着具有明显抑制作用。其中 P、PA、PAB 处理辐射 15 min 后,其盖玻片附着孢子的比例分别为 50.0%、55.1% 和 76.1%,也即孢子在辐射 15 min 期间的附着率分别为 50.0%、44.9% 和 23.9%,UVA 和 UVB 对孢子附着的抑制率分别为 10.2% 和 42.0%。可见紫外辐射尤其是 UVB 显著抑制(延迟)了游孢子的

附着 ($P < 0.05$), 同时 P、PA、PAB 处理时间的延长同样对孢子的附着有延迟作用。不同辐射处理和处理时间之间存在显著交互作用 ($P < 0.05$)。

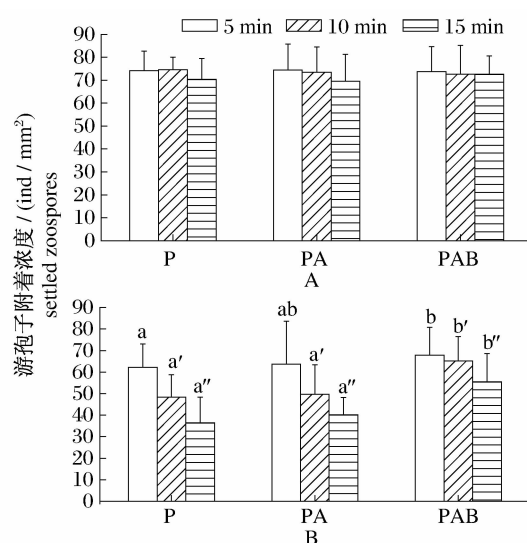


图2 辐射前(A)与辐射后(B)放入24孔板中的盖玻片上黑暗24 h后浒苔孢子的附着密度

Fig. 2 The number of settled zoospores of *U. prolifera* on cover slips were placed into 24-well plate after incubation in the dark for 24 h after (A) or before (B) exposure

2.3 PA 和 PAB 对浒苔孢子萌发的影响

图3为阳光辐射对孢子萌发的影响。PAR的日辐射剂量在3.34~4.52 MJ/m²范围内变动, UVA的日辐射剂量在0.49~0.77 MJ/m²内变动, UVB的日辐射剂量则是14.1~22.6 kJ/m²。

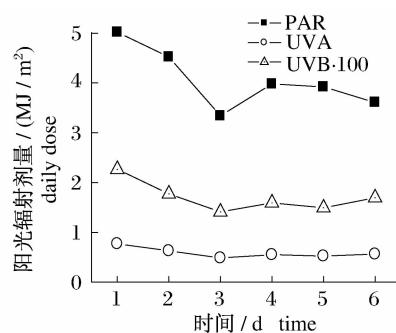


图3 实验期间阳光中 PAR、UVA 和 UVB · 100 的辐射剂量

2009年3月15日-2009年3月21日。

Fig. 3 Daily doses of solar PAR, UVA and UVB · 100 (MJ/m²) for *U. prolifera* zoospores germination

Mar. 15th, 2009 to Mar. 21st, 2009.

图4显示孢子在阳光下紫外辐射下的萌发情况。可以看出, P、PA 和 PAB 处理之间对孢子萌发抑制作用依次加强 ($P < 0.05$), 第3天 PA 和 PAB 处理萌发率分别为 P 处理 57.0% 和 39.1%, UVA 和 UVB 对孢子萌发的抑制率分别为 43.0% 和 17.9%。第3天和第6天同一处理间的差异不显著, 说明孢子的存活决定于最初的3 d, 3 d 后的紫外辐射对幼苗的存活没有显著影响 ($P > 0.05$)。

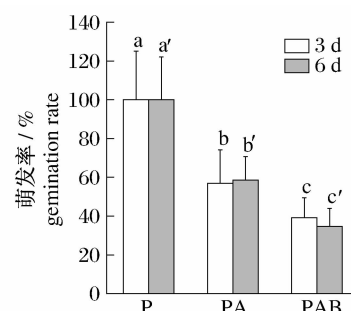


图4 不同太阳紫外辐射对浒苔孢子萌发率的影响

Fig. 4 Effect of different solar radiation on germination rate of zoospores in *U. prolifera* ($n = 30$)

2.4 PA 和 PAB 对浒苔幼苗生长的影响

图5和图6分别显示不同辐射对孢子苗生长细胞数和面积的抑制作用。第3天发现 P、PA 和 PAB 处理后的未萌发孢子率分别为 12.7%、34.5% 和 33.0%, 大于或等于3细胞苗的比例分别为 32.1%、5.5% 和 0.0%; 在第5天, P 处理以8细胞苗为最多, 占 22.4%; PA 处理以4细胞苗为主, 占 50.6%; PAB 处理也以4细胞苗为主, 占 36.1%。第5天大于4细胞的幼苗比例分别为 P: 72.9%; PA: 14.3%; PAB: 10.1%, 显示 PA 和 PAB 均强烈影响萌发幼苗的细胞分裂, 且 PAB 的影响比 PA 更为明显 ($P < 0.05$)。可见 PA 和 PAB 均对幼苗生长有强烈抑制作用, 且 PAB 比 PA 抑制作用更为明显 ($P < 0.05$) (图5)。

阳光紫外辐射对附着孢子苗生长面积也具有显著影响 ($P < 0.05$), 第5天, P、PA 和 PAB 处理后幼苗面积分别为 $(0.0084 \pm 0.0022) \text{ mm}^2$ 、 $(0.0045 \pm 0.0019) \text{ mm}^2$ 和 $(0.0027 \pm 0.0012) \text{ mm}^2$, PA、PAB 对孢子苗面积生长抑制率分别为 46.2% 和 68.1%, 由 UVA 和 UVB 引起的对孢子苗生长的抑制率分别为 46.2% 和 21.9% (图6)。

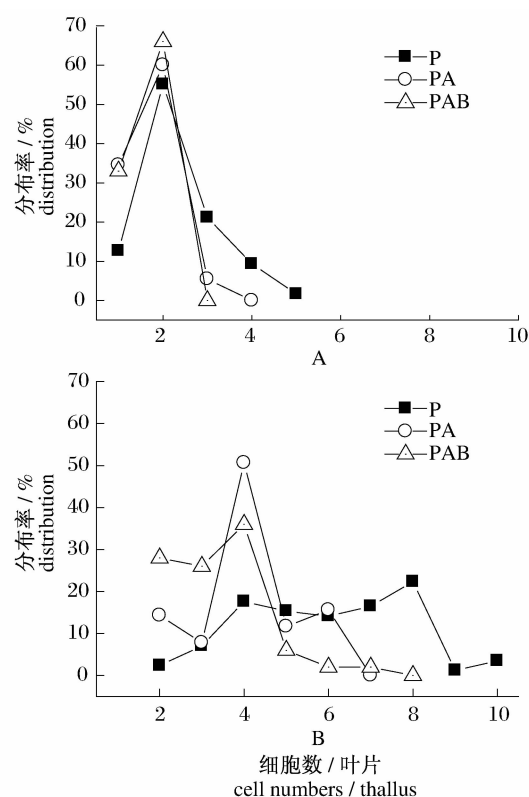


图5 不同阳光紫外辐射处理对浒苔幼苗第3天(A)和第5天小苗(B)的细胞数的影响
Fig. 5 Effects of different solar radiations on sporeling cell quantity at 3rd day (A) and at 5th day (B) in *U. prolifera*

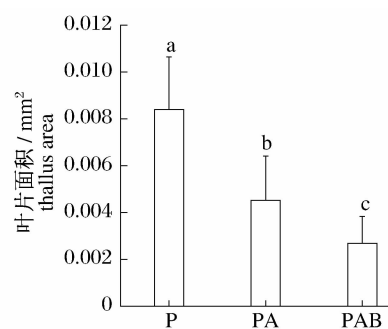


图6 不同太阳紫外辐射对浒苔幼苗生长(平均面积)的影响
Fig. 6 Effect of different solar radiation on the sporelings growth (mean area) in *U. prolifera* at 5th day ($n=30$)

3 讨论

浒苔是潮间带生物,能很好地适应强烈阳光的辐射,自由漂浮的藻体同样必须接受强烈的紫外辐射。然而我们的实验发现紫外辐射对于浒苔

的早期发育具有重大影响。最大光化学效率(Fv/Fm)是反映光合作用效率的有效参数^[19],在较弱的光线下,实验发现浒苔孢子的Fv/Fm随时间逐渐增加,显示刚释放的孢子需要一定的光照以完善光合系统。本实验证明,紫外辐射对浒苔孢子的光合作用有强烈的抑制作用,这种抑制作用随光强的增加而增加,随着时间的延长而加剧,且PAB的抑制作用显著大于PA。然而,紫外辐射的这种抑制作用并不影响孢子的附着率,仅延长孢子附着所需的时间,显示出紫外辐射对孢子附着的迟滞效应。这说明紫外辐射对孢子产生了损伤,但不至于立即影响孢子的附着,仅对附着的生物学过程产生了一定的影响,并导致附着的延迟。可以推测,当紫外辐射强度进一步增大或时间延长,仍将可能影响孢子的附着率。尽管如此,比较其他潮下带的海藻^[12,14],浒苔孢子显示了对紫外辐射的良好适应性。

浒苔孢子的附着对附着基具有选择性,这与附着基的表面特性有关,如:亲水性/疏水性、摩擦系数、表面形态等^[30]。选择盖玻片作为附着基是考虑到其易于使用标准程序清洗,并且附着其上的孢子易于计数^[31]。预实验显示,相对于24孔板,浒苔孢子附着于盖玻片的几率略高些,所以采用在24孔板中进行附着实验对实验结果没有影响。

我们发现浒苔孢子的存活决定于最初的3 d,萌发3 d后的存活率不再受阳光紫外的影响。孢子的存活可被看作是藻类生存的关键,因为一旦藻体建立起来,藻体将不太容易因阳光UVB引起的DNA伤害而导致死亡^[14]。孢子的生存能力与藻体生长的水层相关,那些从高紫外辐射的环境中生长的藻体上释放的孢子具有较高的萌发率和存活率^[32]。在潮下带生长的肠浒苔释放的孢子和配子经阳光辐射后的萌发抑制率达到50%以上,潮间带的红藻*Ceramium rubrum*的孢子经过1 h的增高的紫外辐射后(2.2 W/m² UVB和11 W/m² UVA),死亡率达到50%^[33]。虽然这些实验之间不能直接比较,但显示藻类孢子对紫外辐射的敏感性。

浒苔孢子苗的生长受到紫外辐射的强烈影响,其中PAB的影响尤为明显。关于UVA对海藻生长的影响,因种而异。UVA可引起褐藻*Macrocystis pyrifera*幼苗的生长率明显受到抑制^[34],

也可导致一种大型褐藻明显的光抑制,使其光合速率显著下降^[35]。但 UVA 对 *Ulva expansa*^[36] 和 *Delesseria sanguinea*^[37] 幼苗的生长却没有影响。虽然阳光 UVB 对坛紫菜幼苗的细胞大小有显著抑制效果,抑制率达 14%^[38],但阳光 UV-B 对石纯 *Ulva expansa* 的细胞大小没有影响^[36],本研究也发现紫外辐射对浒苔细胞大小影响不显著(文中数据未显示)。在阳光紫外辐射处理下,孢子的萌发表现出延迟,孢子幼苗含有的细胞数较少,因此,可以认为阳光紫外辐射主要通过影响细胞分裂而对生长产生影响。Grobe 等^[15]认为 UVB 诱导的生长抑制可能是由于干扰细胞周期的 G1 或 G2 期的蛋白合成而影响细胞分裂导致的,Agrawal^[39]发现,UVB 可导致绿藻 *Chlorococcum infusionum* 和 *Chlorogonium elongatum* 的胡萝卜素、叶绿素和氧化态及还原态的谷胱甘肽含量下降,这也是导致生长下降的原因。

相对于 P 处理,在孢子附着最初 3 d 内,PA 和 PAB 对孢子幼苗的存活均有极显著影响;而 3 d 后,孢子幼苗的存活则基本不受阳光紫外的影响,显示了孢子萌发生长的过程也是其抵御紫外辐射系统建立的过程。在孢子附着和萌发阶段,孢子还没有形成完善的防紫外系统。孢子可以看作是浒苔生活史中最简单的阶段,在这一阶段大部分的生理功能还没有完全建立,例如蛋白合成和光合作用^[40]。适应低光的藻类孢子,在强光下将显著降低存活率^[41]。相对于多细胞小苗或叶状体,单细胞的孢子只有一个叶绿体,对光伤害更为敏感。因为 UVB 很容易穿透原生质膜,损伤叶绿体。而在多细胞的叶片中,细胞间的自我遮蔽、不均一的细胞外形和不等的胞间距离可引起光的多次散射^[42],可以衰减 95% 的 UVB 辐射以及 70% 到 80% 的可见光^[43]。

Swanson 等^[44]认为当接收紫外辐射时,藻类孢子的体积影响孢子的萌发能力。从这个意义上讲,孢子的比表面积/体积比率是紫外线敏感性指标,因为体积影响了细胞的生物光学特性,影响了光穿过胞质到达细胞核的距离^[45]。附着后的孢子体积将增大,同时细胞壁逐渐建立^[46],例如褐藻 *Lessonia nigrescens* 孢子的直径为 5 μm ,附着后达到 10 μm ^[47]。浒苔孢子的大小为 (11.7 $\times$ 5.2) μm ,显著大于雌配子 (7.4 $\times$ 3.3) μm 和雄配子 (6.7 $\times$ 2.5) μm ^[8],因此浒苔配子

可能比孢子对紫外线更敏感,值得进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 马家海,张华伟,张天夫.“绿潮”的研究现状及展望[M]//张惠荣.浒苔生态学研究.北京:科学出版社,2009:3-10.
- [2] Sun S, Wang F, Li C L, et al. Emerging challenges: Massive green algae blooms in the Yellow Sea[J]. Nature Proceedings, hdl:10101/npre. 2008. 2266. 1.
- [3] 应成琦,张婷,李信书,等.我国近海浒苔漂浮种类 ITS 与 18S rDNA 序列相似性分析[J].水产学报,2009,33(2):215-219.
- [4] 丁兰平,栾日孝.浒苔(*Enteromorpha prolifera*)的分类鉴定、生境习性及其分布[J].海洋与湖沼,2009,11(2):68-71.
- [5] Leliaert F, Zhang X, Ye N, et al. Identity of the Qingdao algal bloom[J]. Phycol Res, 2009, 57: 147-151.
- [6] 周慧萍,蒋巡天,王淑如,等.浒苔多糖的降血脂及其对 SOD 活力和 LPO 含量的影响[J].生物化学杂志,1995,11(2):161-165.
- [7] Pandery R S, Ohno M. An ecological study of cultivated *Enteromorpha* [J]. Usa Mar Bioll Inst-Kochi Univer, 1985, 7: 21-31.
- [8] 王晓坤,马家海,叶道才,等.浒苔生活史的初步研究[J].海洋通报,2007,26(5):112-116.
- [9] 林阿朋,王超,乔洪金,等.青岛海域漂浮和沉降浒苔的光合作用研究[J].科学通报,2009,54(3):294-298.
- [10] 王超,乔洪金,潘光华,等.青岛奥帆基地海域漂浮浒苔光合生理特点研究[J].海洋科学,2008,32(8):13-15.
- [11] Gao S, Chen X, Yi Q, et al. A strategy for the proliferation of *Ulva prolifera*, main causative species of green tides, with formation of sporangia by fragmentation [J]. Plosone, 2010. doi: 10. 1371/journal. pone. 0008571.
- [12] Flores-Moya A, Posudin Y L, Fernandez J A, et al. Photomovement of the swimmers of the brown algae *Scytosiphon lomentaria* and *Petalonia fascia*: effect of photon irradiance, spectral composition and UV dose [J]. J Photochem and Photobiol B: Biol, 2002, 66: 134-140.
- [13] Franklin L, Forster R. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology [J]. Eur J

- Phycol, 1997, 32: 207–237.
- [14] Wiencke C, Gómez I, Pakker H, *et al.* Impact of UV radiation on viability, photosynthetic characteristics and DNA of brown algal zoospores: implication for depth zonation [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2000, 197: 217–229.
- [15] Grobe C W, Murphy T M. Solar ultraviolet-B radiation effects on growth and pigment composition of the intertidal alga *Ulva expansa* (Setch.) S. & G. (Chlorophyta) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1998, 225: 39–51.
- [16] Lapointe B E, Tenore K R. Experimental outdoor studies with *Ulva fasciata* Delile. I. Interaction of light and nitrogen on nutrient uptake, growth, and biochemical composition [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1981, 53(2–3): 135–152.
- [17] Bischof K, Hanelt D, Wiencke C. Effects of ultraviolet radiation on photosynthesis and related enzyme reactions of marine macroalgae [J]. Planta, 2000, 211(4): 555–562.
- [18] Collén J, Del Rio M J, Garcia-Reina G, *et al.* Photosynthetic production of hydrogen peroxide by *Ulva rigida* C. Ag. (Chlorophyta) [J]. Planta, 1995, 196(2): 225–230.
- [19] Cordi B, Donkin M E, Peloquin J, *et al.* The influence of UV-B radiation on the reproductive cells of the intertidal macroalga, *Enteromorpha intestinalis* [J]. Aqua Toxicol, 2001, 56(1): 1–11.
- [20] Han T, Kong J A, Han Y S, *et al.* UV-A/blue light-induced reactivation of spore germination in UV-B irradiated *Ulva pertusa* (Chlorophyta) [J]. J Phycol, 2004, 40(2): 315–322.
- [21] 何培民, 吴庆磊, 吴维宁, 等. 条浒苔蛋白核超微结构和 Rubisco 及其活化酶分子定位 [J]. 水产学报, 2004, 28(3): 255–260.
- [22] Ott F D. Synthetic media and techniques for the xenic cultivation of marine algae and flagellate [J]. Virginia J Science, 1965, 16: 205–218.
- [23] Gao K S, Li P, Watanabe T, *et al.* Combined effects of ultraviolet radiation and temperature on morphology, photosynthesis, and DNA of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (Cyanophyta) [J]. J Phycol, 2008, 44(3): 777–786.
- [24] Li P, GAO K S. Effects of solar UV and visible radiations on the spiral structure and orientation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (Cyanophyta) [J]. Phycologia, 2008, 47(6): 573–579.
- [25] Korbee P N, Abdala D T, Figueroa F L, *et al.* Ammonium and UV radiation stimulated the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina [J]. J Phycol, 2004, 40: 248–259.
- [26] Hader D P, Lebert M, Marangoni R, *et al.* ELDONET-European light dosimeter network hardware and software [J]. J Photochem Photobiol B: Biol, 1999, 52: 51–58.
- [27] Genty B E, Briantais J M, Baker N R. Relative quantum efficiencies of the two photosystems of leaves in photorespiratory and non-photorespiratory conditions [J]. Plant Physiol Biochem, 1989, 28(1): 1–10.
- [28] 姜红霞. 坛紫菜对阳光紫外辐射的生理生态学响应 [D]. 汕头: 汕头大学, 2007: 121–132.
- [29] Gao K, Xu J. Effects of solar UV radiation on diurnal photosynthetic performance and growth of *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) [J]. Eur J Phyco, 2008, 43(3): 297–307.
- [30] Smith A M, Callow J A. Biological adhesives [M]. Heidelberg: Springer, 2006: 63–76.
- [31] Maureen E, Callow J A, Callow J. Primary adhesion of *Enteromorpha* (Chlorophyta, Ulvales) propagules: quantitative settlement studies and video microscopy [J]. Phycol, 1997, 33(6): 938–947.
- [32] Swanson A K, Druehl L D. Differential meiospore size and tolerance of ultraviolet light stress within and among kelp species along a depth gradient [J]. Mar Biol, 2000, 136(4): 657–664.
- [33] Yakovleva I M, Dring M, Titlyanov E A. Tolerance of North Sea algae to UV and visible radiation [J]. Russ J Plant Physiol, 1998, 45: 45–54.
- [34] Navarro N P, Mansilla A, Palacios M. UVB effects on early developmental stages of commercially important macroalgae in southern Chile [J]. J Appl Phycol, 2008, 20: 897–906.
- [35] Forster R, Lüning K. Photosynthetic response of *Laminaria digitata* to ultraviolet A and B radiation [M] // Figueroa F L, Jiménez C, Pérez-Lloréns J L. Underwater light and algal photobiology. Barcelona: Sci Mar 60, 1996: 65–71.
- [36] Grobe C W, Murphy T M. Inhibition of growth of *Ulva expansa* (Chlorophyta) by ultraviolet-B radiation [J]. J Phycol, 1994, 30(5): 783–790.
- [37] Pang S, Gomez I, Luning K. The red macroalga *Delesseria sanguinea* as a UVB-sensitive model organism: selective growth reduction by UVB in outdoor experiments and rapid recording of growth

- rate during and after UV pulses [J]. Eur J Phycol, 2001, 36(3): 207–216.
- [38] Jiang H X, Gao K S, Helbling W E. Effects of solar UV radiation on germination of conchospores and morphogenesis of sporelings in *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) [J]. Mar Biol, 2007, 151(5): 1751–1759.
- [39] Agrawal S B. Effects of supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in green algae [J]. Environ Exp Bot, 1992, 32(2): 137–143.
- [40] Voskoboinikov G M, Kamnev A N. Morphofunctional changes of the chloroplasts during the seaweed ontogenesis [M]. Leningrad: Nauka, 1991.
- [41] Roleda M Y, Hanelt D, Wiencke C. Exposure to ultraviolet radiation delays photosynthetic recovery in Arctic kelp zoospores [J]. Photosynth Res, 2006, 88(3): 311–322.
- [42] Grzymalski J, Johnsen G, Sakshaug E. The significance of intracellular self-shading on the biooptical properties of brown, red, and green macroalgae [J]. J Phycol, 1997, 33: 408–414.
- [43] Robberecht R, Caldwell M M. Protective mechanisms and acclimation to solar ultraviolet-B radiation in *Oenothera stricta* [J]. Plant Cell Environ, 1983, 6: 477–485.
- [44] Swanson A K, Druehl L D. Differential meiospore size and tolerance of ultraviolet light stress within and among kelp species along a depth gradient [J]. Mar Biol, 2000, 136(4): 657–664.
- [45] Karentz D, Cleaver J E, Mitchell D. Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctica phytoplankton to ultraviolet-B radiation [J]. J Phycol, 1991, 27(3): 326–341.
- [46] Henry E C, Cole K M. Ultrastructure of swimmers in the Laminariales (Phaeophyceae). I. Zoospores [J]. J Phycol, 1982, 18(4): 550–569.
- [47] Hoffman A J, Santelices B. Effects of light intensity and nutrients on gametophytes and gametogenesis of *Lessonia nigrescens* Bory (Phaeophyta) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1982, 60(1): 77–89.

The influence of UV radiation on the zoospores of the greentide macroalga (*Ulva prolifera*)

LI Xin-shu^{1,2}, FENG Zi-hui¹, HUO Yuan-zi¹, XU Jun-tian², HE Pei-min^{1*}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Marine Biotechnology of Jiangsu Province, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: In order to assess the effects of UV radiation (UVR, 280 – 400 nm) on the relative sensitivity, attachment, germination success and seedling growth of the zoospores of the green tide macroalga, *Ulva prolifera*, we exposed the cells to three different radiation treatments (PAB: 280 – 700 nm, PA: 320 – 700 nm, P: 400 – 700 nm) under solar or artificial radiation. The experimental units were covered with three different cut-off filters to obtain three treatments: PAB, PA and P under solar simulator, respectively. The light intensity was set at 900 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, while the irradiances of ultraviolet radiation were UV-A: 19.9 W/m^2 , UV-B: 0.68 W/m^2 , respectively. Optimum photosynthetic efficiency (F_v/F_m) of zoospores was measured as variable fluorescence of PSII by using a water pulse amplitude modulation (PAM) fluorometer. After being exposed to light treatments, the samples were then placed in the dark so that the zoospores could be attached to the cover glass slices randomly. After 24 h the settled zoospores were counted by microscope. The randomly settled zoospores on the cover glass slices were placed under different light treatments with cut-off filters. The germination success and growth were measured punctually. The results showed that: (1) PA and PAB treatments could significantly inhibit the zoospores optimum photosynthetic efficiency (F_v/F_m) under 900 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, and the extension of inhibition increased with exposure time. Moreover, the inhibition of PAB treatment was more obvious than those of P and PA treatments. (2) The hysteresis effects of zoospore settlement were observed under short-term ultraviolet radiation, and the results showed that 24 h settlement rate of PA and PAB treatments after short-term exposure to ultraviolet radiations of 5, 10 and 15 min were not significant from control (P). (3) The significant differences among the groups of germination success of settled zoospores were found when the samples were placed under different solar radiations. The relative germination rates to P treatment at 3rd day and 6th day were: PA: 57.0% and 58.5%, PAB: 39.1% and 34.6%, respectively. There was no significant difference of germination rate between first 3 d and 6 d, which implied zoospore survival depends on the initial 3 d. (4) The seedling growth were significantly inhibited by PA and PAB treatments. The rates of seedlings that contained more than 4 cells at 5th day were P: 72.9%; PA: 14.3%; PAB: 10.1% respectively. The growth inhibition rates were 46.2% and 68.1% by PA and PAB treatments. Overall the data showed that optimum photosynthetic efficiency, adhesion time, germination success and seedling growth of zoospore were significantly inhibited by UVR, and the inhibition of PAB was stronger than that of PA. The results suggested that UVR could play the negative roles on the early development and survival, and might have a major impact on the occurrence and recruitment of *U. prolifera* populations.

Key words: *Ulva prolifera*; zoospores; UV radiation; optimum photosynthetic efficiency; settlement; germination; growth

Corresponding author: HE Pei-min. E-mail: pmhe@shou.edu.cn