紫外辐射（UVB）胁迫下南极硅藻 *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H 的生理生化与抗氧化活性响应

梁 晨[1,2], 安美玲[2], 杨锡洪[1], 缪锦来[2], 曲长凤[2*]

（1. 青岛科技大学 海洋科学与生物工程学院, 山东 青岛 266042；
2. 自然资源部 第一海洋研究所, 山东 青岛 266061）

摘 要：对分离自南极海冰的南极硅藻 *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H 实施一定强度的中波紫外线（UVB）（70 μw/cm^2）辐射（0～7 d），研究了其生理生化指标的变化情况，并了解了 UVB 辐射对其生长及生物组成的影响。结果表明：①在 UVB 胁迫下，该南极硅藻生长速率下降，干重减少，总蛋白含量降低，总脂含量增加；②总单不饱和脂肪酸（MUFA）含量降低，总多不饱和脂肪酸（PUFA）含量升高；③叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 及总叶绿素含量均降低；④抗氧化系统作用相应明显，活性氧自由基（ROS）生成速率增加，丙二醛（MDA）大量产生及总超氧化物歧化酶（SOD）大量累积。本研究为进一步认识南极硅藻 *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H 应对 UVB 辐射的机理以及南极生态系统对 UV-B 辐射响应提供启示。

关键词：UVB；南极硅藻；*Phaeodactylum tricornutum* ICE-H；生理生化；抗氧化活性

中图分类号：Q947 **文献标志码：**A **文章编号：**1671-6647（2023）02-0283-12

doi: 10.12362/j.issn.1671-6647.20211218001

引用格式： 梁晨, 安美玲, 杨锡洪, 等. 紫外辐射（UVB）胁迫下南极硅藻 *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H 的生理生化与抗氧化活性响应[J]. 海洋科学进展, 2023, 41(2)：283-294. LIANG C, AN M L, YANG X H, et al. Physiological, biochemical and antioxidant activity response of Antarctic diatom *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H under ultraviolet radiation (UVB) stress[J]. Advances in Marine Science, 2023, 41(2)：283-294.

太阳光中的紫外线（Ultraviolet，UV）对地球表面的生命体有着巨大的影响。基于不同波长段，紫外辐射分为 3 部分：长波紫外线 UVA（波长为 315～400 nm）、中波紫外线 UVB（波长为 280～315 nm）和短波紫外线 UVC（波长为 200～280 nm），波长越短光子的能量越高[1]。其中，UVA 几乎能全部穿过臭氧层到达地面，但它对生物造成的危害较低；在正常情况下，只有小部分 UVB 能够到达地面，但细胞一旦受到辐射会造成很大破坏；即使没有臭氧层，UVC 也会因其易于被大气层所吸收，而很难到达地表[2-3]。因臭氧层破坏等造成的紫外辐射增强会对生态系统造成一系列有害影响，例如生物体的蛋白质和 DNA 等生物大分子的损伤，光合作用和生长代谢等生理功能受到抑制，

收稿日期：2021-12-18

资助项目：中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目（2020Q02）；国家自然科学基金项目（42176130）；山东省自然科学基金项目（ZR2021MD044 和 ZR2019BD023）；广西科技基地和人才专项（AA21196002）

作者简介：梁 晨（1996—），女，硕士研究生，主要从事海洋资源开发与利用方面研究. E-mail：chenlia0323@163.com

***通信作者：**曲长凤（1987—），女，副研究员，博士，硕士生导师，主要从事极端环境海洋生物适应机制方面研究. E-mail：cfqu@fio.org.cn

（胡筱敏 编辑）

导致初级生产力下降，色素消失以及细胞凋亡等，从而影响到生态系统的生产力[4-7]。

南极地区环境恶劣，温度极低，其冬季到夏季温度的季节性波动（−80～5 ℃）、高 UVB 辐射以及长时间的阳光和黑暗交替是生物在南极洲生存的主要挑战[8]。南极海冰是南极极端环境的重要组成部分，由低温、高盐度、弱光条件下的浓缩盐水通道系统组成[9]。南极冰藻是南极海洋生态系统中最重要的初级生产力之一，在南极生态系统中具有重要的地位和作用。而南极臭氧空洞的不断扩大使得到达南极地表的 UV 辐射不断增强[10-12]，导致南极硅藻的生存环境变差，甚至影响了南极生态系统初级营养的传递[2,13]。UVB 对浮游植物的生长通常被认为是一种负面效应，虽然 UVB 不会对热带、温带和亚南极浮游生物的生物量造成影响[14]，但南极大洋的浮游植物受 UV 辐射的程度要高于近岸浮游植物，其产生的影响不容忽视[15]。UVB 能够降低南极硅藻的生长速率和光合作用速率、改变藻类色素的组成，引起多种类型的细胞损伤，如 DNA 损伤、膜损伤等[16]。同时，UVB 还可以影响藻类的酶保护系统、影响自由基的产生速率，使机体产生大量的活性氧自由基（Reactive Oxygen Species，ROS），从而导致脂质过氧化，使机体启动抗氧化系统来抵御 UVB 损伤。

目前，关于 UVB 对微藻生理生化指标的影响已有很多研究[17-19]，但大多数为普通海域的海洋微藻研究，对极端环境中的微藻研究相对较少；另外，Skerratt 等[20] 研究表明，南极地区夏季地面的紫外辐照强度最高为 50 μW/cm^2，但目前的研究多集中在短时间的 UVB 胁迫且辐射强度普遍较低，而对于这种持续高强度的 UVB 辐射研究还十分匮乏。因此，本研究拟通过室内模拟南极地区紫外辐照强度，并对其进行一定程度的加强（70 μW/cm^2），以南极海冰中的硅藻 *Phaeodactylum tricornutum*（*P. tricornutum*）为实验材料，从生理状态、色素含量及抗氧化能力等方面，探究 UVB 辐射处理对 *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H（*P. tricornutum* ICE-H）的影响，以期为南极硅藻应对紫外辐射的深入研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集、培养与鉴定

1.1.1 样品采集

所用南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 由中国第 18 次南极科学考察队在 2001 年至 2002 年考察期间采集于南极中山站（77 °E, 69 °S）附近，并从南极海冰水样中分离获得，现保存于自然资源部第一海洋研究所海洋生物活性物质重点实验室南极冰藻种质资源库。

1.1.2 藻种培养

将藻种接种于由灭菌海水配制的 f/2 营养盐培养基；培养容器为 1 000 mL 三角锥形瓶，每瓶放入培养基约 600 mL；培养条件：光照周期 12L∶12D、光强为 40 μmol/（m^2·s）、培养温度为 (5±1) ℃。

1.1.3 藻种鉴定

对南极硅藻进行 2 次活化扩大培养后，取对数期的藻液，在 4 ℃ 温度下，以 6 000 r/min 离心 10 min，取沉淀，送至上海生工生物工程股份有限公司进行藻种鉴定。

1.2 南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 的胁迫处理

将正常培养的对数期藻体混匀，并接种于 1 000 mL 锥形瓶中（接种量为 20%），然后随机分为 2 组：一组继续进行正常培养，记为对照组（N 组）；另一组进行 UVB 胁迫，记为实验组（UVB 组）。每组设置 3 个平行。

N 组培养条件：无紫外辐射，滤除 UVB 和 UVC；UVB 组培养条件：采用 4 根 8 W 的 UVB（312 nm）灯管进行照射，辐照强度为 70 μW/cm^2，每照 30 min UVB 后关闭紫外灯，随后白光光照 1.5 h。UVB 组在实验前，使用厚度为 0.12 mm 的乙酸纤维素薄膜包裹 UVB 灯管，以除去 280 nm 以下的短波辐射，同时，调整灯管与培养皿的距离至 20～40 cm。使用 UVB 照度计测量石英三角锥形瓶的 UVB 辐射强度。

1.2.1　生长曲线与干重测定

UVB 胁迫期间，每天定时取适量藻液，于 680 nm 处测其光密度值（OD_{680}），并记录其生长曲线；2 组藻体生长 7 d 以后，分别进行离心，收集藻液，冷冻干燥获得干藻粉，称重后分装，于−80 ℃保存备用。

1.2.2　总蛋白含量测定

称取一定量的干藻粉，加入 1 mL 预冷的 RIPA 裂解工作液（武汉博士德生物工程有限公司）（每 1 mL 裂解液加入 10 μL 磷酸酶抑制剂、10 μL 蛋白酶抑制剂，混匀），在液氮中将组织研磨均匀，将匀浆液转移到 1.5 mL 预冷的离心管中，冰浴 15 min。于 12 000 r/min、4 ℃ 离心 15 min，取上清液，即为全蛋白提取物。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（武汉博士德生物工程有限公司）测定蛋白提取液，以牛血清白蛋白作为标准物，根据测定的标准曲线计算蛋白含量。

1.2.3　总脂及脂肪酸含量测定

总酯含量采用氯仿-甲醇法提取后并进行计算。脂肪酸含量测定：先对样品进行皂化处理，然后加入内标进行甲酯化，加入饱和 NaCl 和正己烷，充分振荡，静置，取正己烷层，采用 GC-MS 法进行脂肪酸含量分析。具体方法参考文献 [21]。

1.2.4　叶绿素含量测定

采用植物叶绿素检测试剂盒（南京建成生物工程研究所），称取藻泥 0.01 g，置于研钵中，加入少量提取粉剂（约 50 mg）和 1 mL 蒸馏水，在避光条件下研磨成液态，然后根据说明书要求进行检测。

1.2.5　活性氧自由基（ROS）产生速率测定

称取 0.01 g 干藻粉，加入 1 mL 的 65 mmol/L 的磷酸缓冲液（pH=7.8）研磨匀浆，于 15 000 r/min、4 ℃ 离心 20 min，取上清液，采用王爱国和罗广华[22] 的方法进行 ROS 产生速率的测定。

1.2.6　丙二醛（Malondialdehyde，MDA）含量测定

称取干藻粉 0.01 g，加入 5 倍体积的 50 mmol/L 磷酸缓冲液（pH=7.0），冰水浴研磨呈匀浆；以 4 500 r/min 离心 20 min，取 0.3 mL 上清液至 3 mL 含 0.01 g/mL 2-硫代巴比妥酸（TBA）的 0.20 g/mL 三氯乙酸（TCA）中，混匀；90 ℃ 水浴 20 min，迅速冷却，再以 10 500 r/min 离心 10 min，取适量上清液；最后于 532 nm 处测其吸光值，计算其 MDA 含量。

1.2.7　总超氧化物歧化酶（Superoxide Dismutase，SOD）活性测定

采用羟胺法试剂盒（南京建成生物工程研究所），根据说明书要求进行 SOD 活性测定。

1.2.8　数据统计

UVB 组和 N 组的实验均进行 3 次重复，数据采用单因素方差分析，结果以平均数±标准差（Mean±SD）表示；采用最小显著差异法（Least Significant Difference，LSD）分析差异性，$P<0.05$ 时具有统计学意义；图表采用 ORIGIN2018 软件进行绘制，并采用*表示其他实验组与 N0 组的比较情况，*代表 $P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 藻种鉴定结果

该藻种测得的 18S 序列为：AAGGAGTCGCTCACTGCGTCGACCTCTAGAGCCCTGGTCAGTGAAATTCACTCACTGGGCTATTTAGCAGGCAGGGGTCTCGTTCGTTAACGGAATTAACCAGACAAATCACTCCACCAACTAAAAACGGCCATGCACCACCACCCATAGAATCAAGAAAGAGCTCTCAATCTGTCAATCCTCACTATGTCTGGACCTGGTAAGTTTTCCCGTGTTGAGTCAAATTAAGCCGCAGGCTCCACTCCTGGGGGTGCCCTTCCGTCAATTTCTTTAAGTTTCAGCCTTGCGACCATACTCCCCCCGGAACCCAAAGACTTGTGATTTCTCATAAGGTGCTGACGGACACGTAACGAAACCCCGCCAATCCCTTGTCGGCATAGTTTATGGTTAAGACTACGATGGTATCTAATCATCTTCGATCCCCTAACTTTCGTTCTTGATTAATGAAAACATCCTTGGTAAATGCTTTCGCAGTAGTTCGTCTTCCAGAAATCCAAGAATTTCACCTCTGACAATGGAATACGAATACCCCCAACTGTCCCTATTAATCATTACCTCGGTGCGCAAACCAACAAAATAGTACCAAGGTCCTATCTCATTATTCCATGCTAATATATTCAACGGCGTAAGCCTGCTTTGAACACTCTAATTTTTTCACAGTAAACGATGGGCATCCCCAGCGCGACAACTTAATGCCACACTGATTCCACCCAAGGATGGCGGACCCAAAACAGCAACGGCCAACTAAGCGCCGAGCCACCGCGCCCACCACAGATCCCAACTACGAGCTTTTTAACTGCAGCAACATTAATATACGCTATTGAAGCTGGAATTACCGCGCTGCTGGCACCAGACTTGCCCTCCAATGGAATCCTCGATAGGAGTTTAATTGATCTCATTCCAATAAGCCAGATCTAGGAGCCGACATGATATTTATGTCACTACTCCTGTTCAGGATGGTATGACCGGCCCTGCTGCTCATGCATTGGTTAGCGGTCTCTCAG。

将该藻种的 18S 测序结果与 GenBank 数据库进行 BLAST 比对（表 1），确定所获得的南极硅藻为 *P. tricornutum*。在培养过程中发现，此株南极硅藻的培养温度不能超过 15 ℃，与常温藻不同，该藻是一株嗜冷藻，因此将其命名为 *P. tricornutum* ICE-H。

表 1 藻种鉴定结果

Table 1 Diatom species identification

物种名	藻株编号	GenBank 序列号	相似度/%
Phaeodactylum tricornutum	UTEX2089	MH063494.1	95.41
	UTEX646	MH063493.1	95.41
	UTEX640	MH063492.1	95.41
	RCC69	KT860965.1	95.41

2.2 UVB 胁迫对 *P. tricornutum* ICE-H 生长与干重的影响

由于藻类的细胞密度与其在 680 nm 处的光密度值（OD_{680}）呈线性相关，因此本文对 *P. tricornutum* ICE-H 的 OD_{680} 进行记录，得到其生长曲线（图 1）。如图 1 所示，在正常生长和 UVB 胁迫两种培养条件下培养 0～7 d 后，*P. tricornutum* ICE-H 都没有产生明显死亡现象，但从第 1 天开始就可以明显地看出，2 种处理方式得到的生长情况存在差异。与正常条件相比，经 UVB 处理后，*P. tricornutum* ICE-H 的 OD_{680} 明显降低，这表明经 UVB 处理后南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 生长受到抑制。

由图 1 可以看出，经 UVB 处理后，*P. tricornutum* ICE-H 的 OD_{680} 达到最大值的时间也发生了变化：UVB 胁迫期间，其 OD_{680} 在第 5 天达到了最大值(0.21±0.004)；而在正常条件下，其 OD_{680} 在第 6 天达到最大值(0.30±0.003)，表明 UVB 胁迫严重影响了 *P. tricornutum* ICE-H 的生长状况，使其提前进入衰老期。

同时，在 UVB 胁迫下，*P. tricornutum* ICE-H 的生长衰退也导致了其生物量减少。由图 2 可知，与对照组相比，*P. tricornutum* ICE-H 的生物量显著降低。同时，经过 7 d 的 UVB 处理后，*P. tricornutum* ICE-H 的生物量累积无明显变化。

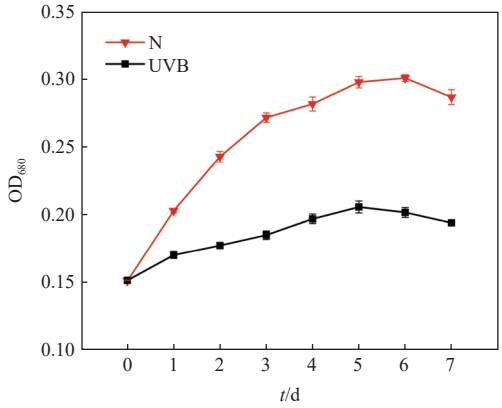


图 1　UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H 的生长曲线

Fig. 1　Growth curve of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

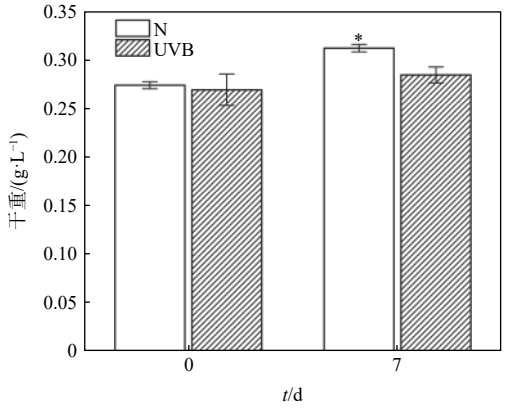


图 2　UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H 的干重

Fig. 2　Dry weight of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

2.3　UVB 胁迫对 *P. tricornutum* ICE-H 总蛋白、总脂与脂肪酸含量的影响

图 3 和图 4 分别为在 UVB 胁迫下，*P. tricornutum* ICE-H 的总蛋白、总脂含量变化。与对照组相比，经 UVB 胁迫后 *P. tricornutum* ICE-H 的总蛋白含量显著降低，总脂含量显著升高。

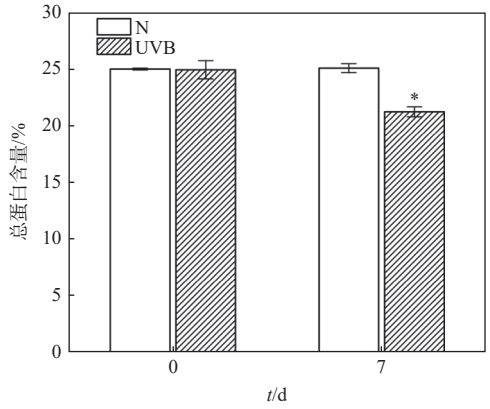


图 3　UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H 总蛋白含量

Fig. 3　Protein content of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

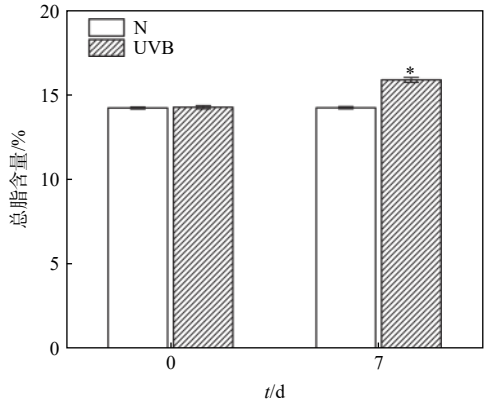


图 4　UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H 总脂含量

Fig. 4　Lipid content of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

P. tricornutum ICE-H 脂肪酸含量如表 2 所示，与对照组比，经 UVB 胁迫后，*P. tricornutum* ICE-H 的总单不饱和脂肪酸(Monounsaturated Fatty Acid，MUFA)含量降低，C16：1 由(26.75±0.10)% 下降

到（20.32±0.16）%；总多不饱和脂肪酸（Polyunsaturated Fatty Acid，PUFA）含量升高，C20：5 由（10.1±0.38）% 上升到（16.29±0.29）%。经 UVB 胁迫后，在饱和脂肪酸（Saturated Fatty Acid，SFA）中 C14：0 含量升高，由（3.41±0.02）% 上升到（4.79±0.07）%；C16：0 含量降低，由（10.12±0.32）% 下降到（8.76±0.39）%。

表 2 *P. tricornutum* ICE-H 脂肪酸组成及含量变化（%）

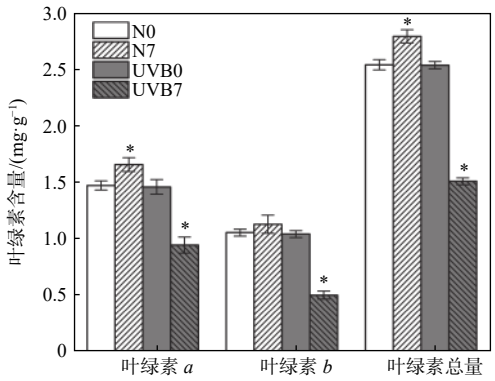
Table 2 Changes of fatty acids composition and content of *P. tricornutum* ICE-H (%)

脂肪酸种类	对照组		实验组	
	N0	N7	UVB0	UVB7
C12：0	0.35±0.02	0.39±0.01	0.36±0.01	0.26±0.03
C14：0	3.43±0.05	3.56±0.00	3.41±0.02	4.79±0.07
C14：1	1.05±0.00	1.06±0.02	1.07±0.20	1.27±0.02
C16：0	10.02±0.15	11.17±0.11	10.12±0.32	8.76±0.39
C16：1	26.91±0.01	26.26±0.25	26.75±0.10	20.32±0.16
C16：2	2.9±0.03	2.95±0.06	2.98±0.06	1.02±0.04
C18：0	0.89±0.09	0.61±0.07	0.64±0.35	0.89±0.39
C18：1	5.45±0.03	5.61±0.15	5.56±0.03	5.94±0.14
C18：2	2.65±0.03	2.59±0.03	2.49±0.08	2.06±0.14
C18：3	19.2±0.44	19.8±0.20	19.6±0.16	18.5±1.33
C20：3	10.9±0.31	10.3±0.04	10.6±0.09	9.2±0.28
C20：4	2.26±0.00	2.3±0.05	2.36±0.03	3.92±0.11
C20：5	10.5±0.19	10.2±0.63	10.1±0.38	16.29±0.29
总饱和脂肪酸	14.69	15.73	14.53	14.7
总单不饱和脂肪酸	33.41	32.93	33.38	27.53
总多不饱和脂肪酸	48.41	48.14	48.13	50.99

注：表中数值均为该脂肪酸占所有脂肪酸的百分比；N0 为对照组正式实验前（第 0 天）；N7 为对照组培养第 7 天；UVB0 为实验组 UVB 胁迫前（第 0 天）；UVB7 为实验组 UVB 胁迫第 7 天。

2.4 UVB 胁迫对 *P. tricornutum* ICE-H 叶绿素含量的影响

在 UVB 胁迫条件下，*P. tricornutum* ICE-H 的叶绿素含量变化如图 5 所示。在正常条件下，*P. tricornutum* ICE-H 的叶绿素 *a* 和总叶绿素含量显著升高，叶绿素 *b* 含量无显著变化。与 N 组相比，经 UVB 胁迫后的叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 及总叶绿素均含量显著降低（$P<0.05$），表明在 UVB 胁迫下南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 叶绿素遭到了破坏。



注：N0 和 N7 分别代表对照组第 0 天和第 7 天，UVB0 和 UVB7 分别代表实验组第 0 天和第 7 天。

图 5　UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H 叶绿素含量

Fig. 5　Chlorophyll contents of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

2.5　UVB 胁迫对 *P. tricornutum* ICE-H 抗氧化能力和丙二醛(MDA)的影响

UVB 对 *P. tricornutum* ICE-H 体内活性氧自由基(ROS)产生速率的影响如图 6 所示，对照组在培养的第 1 天与第 7 天，*P. tricornutum* ICE-H 的 ROS 产生速率无明显变化；但经 UVB 胁迫 7 天，*P. tricornutum* ICE-H 细胞中 ROS 产生速率达到了 (31.36±2.84) nmol/(g·min)，为对照组的 3 倍多。由此可见，在 UVB 胁迫下，*P. tricornutum* ICE-H 体内的 ROS 产生-清除系统平衡被打破，ROS 快速产生，而其体内的 ROS 的清除系统不能完全清除 ROS，导致 ROS 积累，从而对硅藻细胞造成损伤。

P. tricornutum ICE-H 细胞中 MDA 含量如图 7 所示，对照组中 MDA 含量没有显著变化，为 (0.14±0.007) μmol/g；但在 UVB 胁迫下，*P. tricornutum* ICE-H 细胞中 MDA 含量达到了 (0.24±0.02) μmol/g，为对照组的 1.7 倍，表明 *P. tricornutum* ICE-H 细胞中 MDA 含量与 UVB 辐射相关。MDA 是过氧化产物，它能与细胞内各种成分发生强烈反应，导致膜结构破坏。当 *P. tricornutum* ICE-H 处于 UVB 胁迫时，会引发或加剧膜脂的过氧化作用，同时细胞内会产生大量的 MDA 从而造成膜损伤。

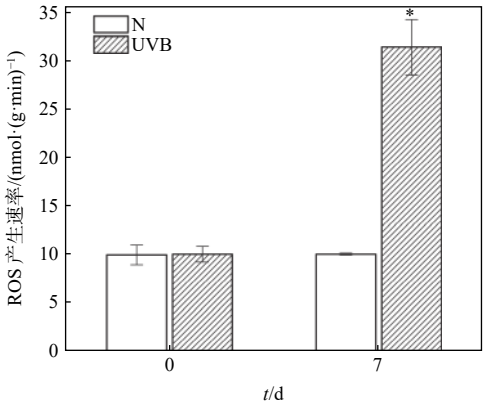


图 6　UVB 胁迫下南极硅藻 ROS 产生速率

Fig. 6　ROS production rate of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

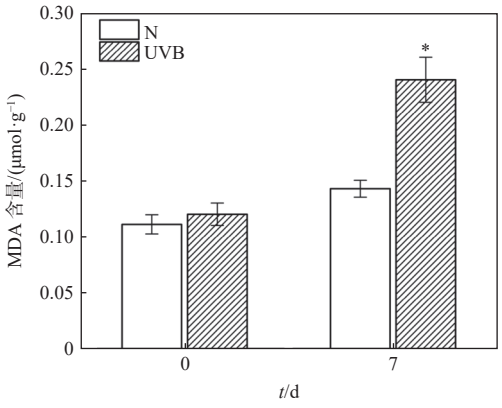


图 7　UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H MDA 含量

Fig. 7　MDA content of *P. tricornutum* ICE-H under UVB stress

正常培养条件下，*P. tricornutum* ICE-H 细胞中 SOD 活性没有显著变化(图 8)，为 (108.3±5.7) U/mg；而在 UVB 胁迫下，*P. tricornutum* ICE-H 细胞中 MDA 含量达到了 (351±11) U/mg，约为 N 组的

3.2 倍。由此可见，当 *P. tricornutum* ICE-H 受 UVB 胁迫时，其细胞内 SOD 活性会升高，对细胞产生保护作用。

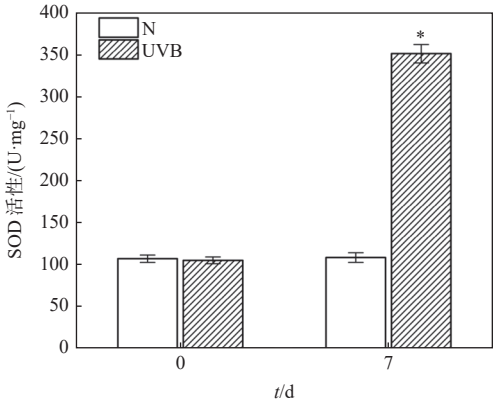


图 8 UVB 胁迫下 *P. tricornutum* ICE-H SOD 活性

Fig. 8 Enzyme activity of SOD in *P. tricornutum* under UVB stress

上述结果表明，在 UVB 胁迫条件下，微藻细胞内产生大量的 ROS，导致酶和膜脂损伤，从而大量生成 MDA，而微藻体内可以产生抗紫外线辐射活性物质，同时，还存在抗氧化酶，体内的抗氧化酶开始激发，有效地清除 ROS，抵御 UVB 损伤。

3 讨 论

3.1 南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 生长与总蛋白含量对 UVB 辐射的响应

关于 *P. tricornutum* 对 UVB 辐射的生长状况响应已有很多研究。刘成圣等[23]研究表明，低剂量（0～0.8 J/m^2）的 UVB 辐射能够促进 *P. tricornutum* 的生长，其相对生长率会有所提高，但随着 UVB 辐射时间的延长，*P. tricornutum* 的生长会受到明显的抑制；屠燕萍等[24]研究也发现低剂量 UVB 辐射（0.75 J/m^2）对其生长具有一定的促进作用，但随着辐射剂量增加，抑制效果会不断增强。与之不同的是，本实验设置的 UVB 辐射是高强度长时间的辐射，因此在 UVB 胁迫开始时 *P. tricornutum* ICE-H 的生长速率便受到抑制，且前 2 天抑制效果尤为明显。而后，在 UVB 胁迫的第 5 天，*P. tricornutum* ICE-H 的生长达到顶峰，后续开始进入衰老期。与对照组相比，UVB 抑制效果明显，*P. tricornutum* ICE-H 的生物量积累减缓并使其提前进入衰老期。这可能是由于 *P. tricornutum* ICE-H 体内细胞分裂速度减慢所致，同时，UVB 辐射导致藻体内产生大量的 ROS，使细胞受到氧化伤害，提前进入衰老期。

藻类中的蛋白质在抗 UVB 辐射中起着重要作用[25]，同时，UVB 可以抑制光合作用蛋白质的合成，从而影响光合作用[26]。值得注意的是，Nahon 等[18]对 *Skeletonema costatum* 的研究发现，UVB 对氨基酸的组成和比例没有显著影响，在 UVB 胁迫下氨基酸的总量减少。本实验中经过 7 天的 UVB 胁迫后，*P. tricornutum* ICE-H 的蛋白含量显著下降（$P<0.05$），表明 UVB 辐射严重影响了南极硅藻体内蛋白质的积累。造成这种现象的原因可能有 2 种：一是为了抵御 UVB 辐射，细胞内的蛋白质、氨基酸等不断分泌到胞外不断消耗；二是为了合成抵御 UVB 损伤的其他物质，如，多糖、脂肪酸等，从而影响了蛋白质的合成。

3.2 南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 总脂与脂肪酸含量对 UVB 辐射的响应

研究表明，UVB 辐射可使藻类的脂肪酸组成和含量发生变化[18-19,27]。本实验中经 UVB 辐射后，

P. tricornutum ICE-H 总脂含量显著增加($P<0.05$)。造成这种现象的原因是大多数微藻在有限的营养条件下都会积累脂质[28-29]。在饱和脂肪酸中 C14∶0 含量升高，而 C16∶0 含量降低；在不饱和脂肪酸中，MUFA 含量降低，PUFA 含量升高。与一般的海洋微藻相比，*P. tricornutum* ICE-H 脂肪酸的不饱和度更高，其饱和脂肪酸及单不饱和脂肪酸含量较低，而多不饱和脂肪酸含量较高。脂肪酸不饱和度的增加可以大大提高了细胞膜的流动性[30]，从而使维持细胞膜在南极恶劣生态环境下的流动性，维持生物体的生长发育，因此多不饱和脂肪酸可能在南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 的抗紫外辐射方面起着重要的作用。

值得一提的是，在本实验中 UVB 辐射后，C20∶5 含量增加了 61.29%，在 PUFA 含量增加中起主要作用。缪锦来等[25] 对南极冰藻中分离的其他 2 种硅藻的 UVB 胁迫中也发现了 C20∶5 含量有升高的趋势。二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic Acid，EPA)作为重要的不饱和脂肪酸之一，在南极冰藻中的特殊变化是值得后续研究注意的。

3.3　南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 的叶绿素含量对 UVB 的响应

叶绿素是植物形态建成和产量形成的基础，UVB 辐射主要破坏的光合色素[24,31]。目前研究 UVB 对微藻叶绿素的影响主要集中于叶绿素 *a* 的含量方面，而对于叶绿素 *b* 含量的关注较少。本实验中在高强度持续的 UVB 胁迫后，*P. tricornutum* ICE-H 的叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 及总叶绿素含量均显著降低($P<0.05$)，且 UVB 对叶绿素 *b* 的影响比叶绿素 *a* 更明显，表明 UVB 胁迫会对叶绿素造成破坏，尤其是叶绿素 *b*。其原因可能是随着辐射时间的延长，*P. tricornutum* ICE-H 的叶绿素质膜和叶绿素分子遭到破坏[32]。

3.4　南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 抗氧化系统对 UVB 的响应

UVB 辐射会使藻类产生大量的 ROS，对藻类细胞组织和成分造成损伤，而藻体内存在消除 ROS 的抗氧化防御系统，其中最重要的便是抗氧化酶，如 SOD 等。MDA 含量是膜质过氧化程度的重要指标，可以间接反映出细胞的损伤程度[33]。大量研究[34-35] 表明，UVB 辐射会使海洋微藻的 ROS 及 MDA 含量升高，但是随着辐射增加，其 SOD 等抗氧化酶含量呈下降趋势。而本实验中，在 UVB 胁迫 7 天后，*P. tricornutum* ICE-H 体内 ROS、SOD 及 MDA 含量均显著提高($P>0.05$)，其中 SOD 含量增加 3 倍之多。表明南极硅藻 *P. tricornutum* 在南极恶劣的生存环境中，形成了比一般海洋藻类更加强大的抗氧化系统，对 UVB 的伤害耐受性更强，抗氧化系统更不容易受到伤害。

4　结　语

目前，随着南极臭氧空洞的不断扩大，UVB 辐射不断增强，对南极冰藻的生存产生负面影响，而南极冰藻作为南极生态系统重要的初级生产力之一，研究其对 UVB 的响应及作用机制对维持南极生态系统稳定至关重要，因此本文开展了南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 在 UVB 胁迫下生理生化响应的研究工作，选取分离自南极海冰的南极硅藻 *P. tricornutum* ICE-H 为实验原料，采用 UVB 胁迫的方法研究其生理生化变化，得到以下结论。

1)经 UVB 胁迫后，*P. tricornutum* ICE-H 的生长会受到抑制并提前进入衰老期。具体表现在其生长速度缓慢，干重累积减少；同时 UVB 胁迫还会影响藻类总蛋白的累积，其总脂含量增加。

2)经 UVB 胁迫后 *P. tricornutum* ICE-H 的脂肪酸含量发生变化，具体表现在单不饱和脂肪酸含量降低，多不饱和脂肪酸含量增加。其脂肪酸不饱和度的增加，提高了细胞膜的流动性以应对南极恶劣的生存环境，维持机体生长发育。

3）UVB 胁迫后 *P. tricornutum* ICE-H 叶绿素含量发生变化，叶绿素 *a* 和叶绿素 *b* 的含量均降低，其总叶绿素含量也随之减少。

4）UVB 胁迫会导致 *P. tricornutum* ICE-H 体内氧化应激水平发生变化，其中 ROS 的生成速率不断加快，MDA 含量显著增加，从而使机体产生大量的抗氧化酶 SOD 来抵御 UVB 损伤。

参考文献 (References):

[1] 廖健祖, 郭亚娟, 袁翔城, 等. 紫外辐射对两种海洋微藻生长及培养体系碳流的影响[J]. 生态科学, 2018, 37(1): 1-9. LIAO J Z, GUO Y J, YUAN X C, et al. The effects of UVR on the growth of two marine microalgae and the carbon flow in the culture system[J]. Ecological Science, 2018, 37(1): 1-9.

[2] BARLEV A, SEN D. DNA's encounter with ultraviolet light: an instinct for self-preservation?[J]. Accounts of Chemical Research, 2018, 51(2): 536-533.

[3] BIRN L O. Photoenzymes and related topics: an update[J]. Photochemistry and Photobiology, 2018, 94(3): 459-465.

[4] PROCÓPIO L, PÁDULA M, ELSAS J D V, et al. Adaptative transcriptional response of *Dietzia cinnamea* P4 strain to sunlight simulator[J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(7): 1701-1708.

[5] VEGA J, BONOMI-BARUFI J, GOMEZ-PINCHETTI J L, et al. Cyanobacteria and red macroalgae as potential sources of antioxidants and UV radiation-absorbing compounds for cosmeceutical applications[J]. Marine Drugs, 2020, 18(12): 659.

[6] FU S M, XUE S, CHEN J, et al. Effects of different short-term UV-B radiation intensities on metabolic characteristics of *Porphyra haitanensis*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(4): 2180.

[7] KAWASAKI K, IWASAKI H. Involvement of glycogen metabolism in circadian control of UV resistance in cyanobacteria[J]. PLoS Genetics, 2020, 16(11): e1009230.

[8] ZHANG Z H, AN M L, MIAO J L, et al. The Antarctic sea ice alga *Chlamydomonas* sp. ICE-L provides insights into adaptive patterns of chloroplast evolution[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 53.

[9] ZHANG Z H, QU C F, ZHANG K J, et al. Adaptation to extreme Antarctic environments revealed by the genome of a sea ice green alga[J]. Current Biology, 2020, 30(17): 3330-3341.

[10] 朱仁斌, 孙立广, 谢周青, 等. 南极菲尔德斯半岛植被微区CO_2浓度的监测[J]. 环境科学, 2002, 22(4): 6-10. ZHU R B, SUN L G, XIE Z Q, et al. Monitoring of CO_2 concentration in vegetation micro-areas of Fildes peninsula, Antarctica[J]. Environmental Science, 2002, 22(4): 6-10.

[11] NEWSHAM K K. UV-B radiation arising from stratospheric ozone depletion influences the pigmentation of the Antarctic moss *Andreaea regularis*[J]. Oecologia, 2003, 135(3): 327-331.

[12] SATO R, HARADA R, SHIGETA Y. The binding structure and affinity of photodamaged duplex DNA with members of the photolyase/cryptochrome family: a computational study[J]. Biophysics and Physicobiology, 2018, 15(1): 18-27.

[13] PANDEY K D, SHUKLA S P, SHUKLA P N, et al. Cyanobacteria in Antarctica: ecology, physiology and cold adaptation[J]. Cellular and Molecular Biology, 2004, 50(5): 575-584.

[14] HADER D P, HELBLING E W, WILLIAMSON C E, et al. Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change[J]. Photochemical & Photobiological Sciences, 2011, 10(2): 242-260.

[15] FRITZ J J, NEALE P J, DAVIS R F, et al. Response of Antarctic phytoplankton to solar UVR exposure: inhibition and recovery of photosynthesis in coastal and pelagic assemblages[J]. Marine Ecology Progress Series, 2008, 365: 1-16.

[16] DAVIES C H, AJANI P, ARMBRECHT L, et al. A database of chlorophyll *a* in Australian waters[J]. Scientific Data, 2018, 5(1): 180018.

[17] WARING J, UNDERWOOD G J C, BAKER N R. Responses of estuarine intertidal microphytobenthic algal assem-

blages to enhanced ultraviolet B radiation[J]. Global Change Biology, 2007, 13(7): 1398-1413.

[18] NAHON S, CHARLES F, LANTOINE F, et al. Ultraviolet radiation negatively affects growth and food quality of the pelagic diatom *Skeletonema costatum*[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2010, 383(2): 164-170.

[19] GUIHENEUF F, FOUQUERAY M, MIMOUNI V, et al. Effect of UV stress on the fatty acid and lipid class composition in two marine microalgae *Pavlova lutheri* (Pavlovophyceae) and *Odontella aurita* (Bacillariophyceae)[J]. Journal of Applied Phycology, 2010, 22(5): 629-638.

[20] SKERRATT J H, DAVIDSON A D, NICHOLS P D, et al. Effect of UV-B on lipid content of three Antarctic marine phytoplankton[J]. Phytochemistry, 1998, 49(4): 999-1007.

[21] 安美玲. 不同生境下南极冰藻*Chlamydomonas* sp. ICE-L不饱和脂肪酸的研究及脂肪酸去饱和酶的功能验证[D]. 青岛: 国家海洋局第一海洋研究所, 2014. AN M L. Study on fatty acid desaturases and fatty acid profile in *Chlamydomonas* sp. ICE-L[D]. Qingdao: First Institute of Oceanography, SOA, 2014.

[22] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通报, 1990(6): 55-57. WANG A G, LUO G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicala in plants[J]. Plant Physiology, 1990(6): 55-57.

[23] 刘成圣, 唐学玺, 王艳玲, 等. UV-B辐射对三角褐指藻DNA伤害的研究[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(2): 45-48. LIU C S, TANG X X, WANG Y L, et al. Studies on the damage of UV-B radiation to DNA of *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Marine Fisheries Research, 2002, 23(2): 45-48.

[24] 屠燕萍, 俞泓伶, 谢志浩. 三角褐指藻和小角毛藻对 UV-B 辐射增强的生理生化响应[J]. 生态科学, 2013, 32(4): 474-479. TU Y P, YU H L, XIE Z H. Physiological and biochemical responses of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chaetoceros minutissimus* to enhanced UV-B irradiation[J]. Ecological Science, 2013, 32(4): 474-479.

[25] 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[J]. 海洋科学, 2004, 28(9): 26-31. MIAO J L, KAN G F, JIANG Y H, et al. Responses of bio-chemical compositions of four Antarctic ice microalgae to UV-B irradiation enhancement[J]. Marine Sciences, 2004, 28(9): 26-31.

[26] JORDAN B R, HE J, CHOW W S, et al. Changes in mRNA levels and polypetide subunits of ribulose-1, 5-biophosphate carboxylase in response to supplementary ultraviolet-B radiation[J]. Plant Cell Environment, 1992, 15(1): 91-98.

[27] LEU E, GRAEVE M, WULFF A. A (too) bright future? Arctic diatoms under radiation stress[J]. Polar Biology, 2016, 39: 1711-1724.

[28] ILLMAN A M, SCRAGG A H, SHALES S W. Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 27(8): 631-635.

[29] SINHA R P, HADER D P. Life under solar UV radiation in aquatic organisms[J]. Advances in Space Research, 2002, 30(6): 1547-1556.

[30] 阚光锋, 史翠娟, 缪锦来, 等. 南极冰藻*Chlamydomonas* sp. L4的UV-B的辐射效应研究[J]. 高技术通讯, 2008, 9(18): 966-970. KAN G F, SHI C J, MIAO J L, et al. Effect of UV-B radiation on Antarctic ice microalga *Chlamydomonas* sp. L4[J]. High Technology Letteres, 2008, 9(18): 966-970.

[31] 彭小伟, 何剑锋, 罗玮, 等. UV-B短期照射对北极冰川小球藻*Chlorella* sp. 的生物学效应[J]. 极地研究, 2010, 22(2): 164-173. PENG X W, HE J F, LUO W, et al. The physiological and biochemical researches of an Arctic microalgae (*Chlorella* sp.) to UV-B radiation[J]. Chinese Journal of Polar Research, 2010, 22(2): 164-173.

[32] 蔡恒江, 唐学玺, 张宇红, 等. UV-B辐射对亚历山大藻生长及其生理生化特征的影响[J]. 海洋环境科学, 2007, 26(2): 130-133. CAI H J, TANG X X, ZHANG Y H, et al. Effects of UV-B radiation on the growth, physiological and biochemical characteristics of *Alexandrium tamarense*[J]. Marine Environmental Science, 2007, 26(2): 130-133.

[33] HADER D P, KUMAR H D, SMITH R C. Effects on aquatic ecosystems[J]. Journal of Photochemistry & Photobiology Biology, 1998, 46(1): 53-56.

[34] 郭佳敏, 屠燕萍, 谢志浩. UV-B辐射对除菌和带菌米氏凯伦藻生长和生理生化特征的影响[J]. 中国科技论文, 2017,

12(6): 914-618. GUO J M, TU Y P, XIE Z H. Effects of UV-B irradiation on growth and physiological and biochemical characteristics of *Kareoia mikimotoi* before and after axenation[J]. China Sciencepaper, 2017, 12(6): 914-918.

[35] JANKNEGT P J, POLL W, VISSER R, et al. Oxidative stress responses in the marine Antarctic diatom *Chaetoceros brevis* (Bacillariophyceae) during photoacclimation[J]. Journal of Phycology, 2008, 44(4): 956-966.

Physiological, Biochemical and Antioxidant Activity Response of Antarctic Diatom *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H Under Ultraviolet Radiation (UVB) Stress

LIANG Chen[1,2], AN Meiling[2], YANG Xihong[1], Miao Jinlai[2], QU Changfeng[2]

（1. *College of Marine Science and Biological Engineering*, *Qingdao University of Science and Technology*, Qingdao 266042, China；
2. *First Institute of Oceanography*, *MNR*, Qingdao 266061, China）

Abstract: *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H, a diatom isolated from Antarctic sea ice, was subjected to a certain intensity of UVB (70 μw/cm^2) radiation for 0−7 days, and the changes in its physiology and biochemistry were studied to understand the effect of UVB radiation on its growth and biological composition. The results showed that: UVB stress decreased the growth rate of *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H, decreased dry weight and total protein content of it, and increased total lipid content. Total monounsaturated fatty acid (MUFA) decreased, and total polyunsaturated fatty acid (PUFA) increased. The content of photosynthetic pigments chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and total chlorophyll all decreased. The activity of antioxidant system was correspondingly obvious, the generation rate of reactive oxygen species (ROS) increased, malonaldehyde (MDA) produced in a large amount and superoxide dismutase (SOD) accumulated in large quantities. The results of this study can provide further understanding of the mechanism of *Phaeodactylum tricornutum* ICE-H in response to UVB radiation from the physiological and biochemical level, and provide enlightenment for the response of Antarctic ecosystems to UVB radiation.

Key words: UVB；Antarctic diatom；*Phaeodactylum tricornutum* ICE-H；physiological and biochemical；antioxidant activity

Received: December 18, 2021