

文章编号: 1000- 0615(2003)02- 0105- 08

雨生红球藻对紫外辐射的生理适应及超微结构变化

蒋霞敏¹, 翟兴文¹, 王 丽², 陆开彤¹

(1. 宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211;

2. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310031)

摘要: 用不同剂量的紫外线辐射雨生红球藻, 测定了生长 K 值、色素含量、SOD、POD、CAT 酶活性的变化, 同时用 TEM 观察了细胞超微结构的变化。结果表明, 紫外辐射对雨生红球藻有致死效应, 致死率随着剂量升高而加大, 辐射 8min 后藻细胞全部致死。辐射时间小于 4min 的存活抗性藻株生长率明显高于对照组; 紫外辐射后细胞叶绿素和类胡萝卜素含量增加, 增幅随着辐射时间的延长而加大。紫外辐射 4~ 5min 能使红球藻细胞虾青素含量显著提高; 紫外辐射 1~ 4min, 细胞中 SOD 活性随着剂量增大极显著升高, 但 CAT 酶活性降低(不显著), 紫外辐射 5min 时 SOD、CAT 都失活, 叶绿体、线粒体、高尔基体等细胞器都受到严重损伤。POD 酶活性在紫外辐射 3~ 5min 大幅度提高。

关键词: 雨生红球藻; 紫外辐射; 生长率; 色素含量; 抗氧化酶; 超微结构

中图分类号 Q274 文献标识码: A

Physiological adaptation and ultrastructure change of *Haematococcus pluvialis* exposed to ultraviolet radiation

JIANG Xia-min¹, ZHAI Xing-wen¹, WANG Li², LU Kai-xing¹

(1. Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Medical College, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract Some changes of growth rate, pigment content, SOD activity, POD activity, CAT activity and ultrastructure of *Haematococcus pluvialis* exposed to different dosage ultraviolet radiation have been studied, the results showed that only little ultraviolet radiation is lethal for *H. pluvialis*, and more microalga be died with longer illumination time till all microalga died after 8 minutes exposure, while the survivors exposed shorter than 4 minutes have higher growth rate than the control group. There is more chlorophyll and carotenoid content in the cell with longer radiation time, and remarkable increase of astaxanthin content after being radiated between 4- 5 minutes has also been discovered. Contrary to the decrease of CAT activity, SOD activity has much increased to resist the ultraviolet radiation till both losing activity after 5 minutes exposure when some of their organelles were damaged irreversibly by ultraviolet radiation, such as chloroplast, plastosome and Golgi body, and POD activity

收稿日期: 2002-11-28

资助项目: 浙江省自然科学基金资助项目(301208)

作者简介: 蒋霞敏(1957-), 女, 浙江普陀人, 副教授, 主要从事藻类克隆与饵料生物培养。Tel: 0574- 87148553, E-mail: jiangxiamin@

sina.com

has also much increased after 3– 5 minutes exposure.

Key words: *Haematococcus pluvialis*; ultraviolet radiation; growth rate; pigment content; antioxidant enzyme; ultrastructure

虾青素是一种次生类胡萝卜素,因其具有超强抗氧化作用和良好的着色作用等功效而受到重视。雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)中天然虾青素含量可达到4%^[1],是自然界中天然虾青素含量最高的生物,近年来一直受到国内外藻类工作者的普遍关注^[2-4],但仍需改良种质,提高生长速率和虾青素含量。紫外诱变作为一种简单实用的改良种质的方法在生物领域已经取得不少成果^[5],但也有研究认为虾青素有抗紫外辐射的功效^[6]。本文从生长、色素含量、抗氧化酶活性及超微结构变化等方面研究了紫外辐射对雨生红球藻的影响,以期进一步了解紫外辐射对富含虾青素生物体的生理生化的影响。

1 材料与方法

1.1 试验藻种与培养基

雨生红球藻由中国科学院水生生物研究所典型培养物保藏委员会淡水藻种库提供。所有试验藻均用浙江水产学院 MAV 培养基培养,培养液配方为:KNO₃ 100mg; KH₂PO₄ 10mg; FeSO₄ 2.5 mg; MnSO₄ 0.25mg; EDTA-Na₂ 10mg; V_{B1} 6 × 10⁻³mg; V_{B12} 5 × 10⁻²μg; 消毒淡水 1000mL。

1.2 紫外诱变处理及致死率的测定

取 5mL 指数生长期的藻放入直径 9.5 cm 培养皿中,30W 紫外灯 30cm 处分别辐射 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8min,每样 3 个平行,辐射后在黑暗中过夜,3d、6d 时分别细胞计数,计算致死率,致死率(%) = 死亡细胞数/初始细胞数 × 100。

1.3 生长率及虾青素含量测定

辐射 1、2、3、4、5min 后的藻细胞按 5000 cell·mL⁻¹ 密度接种 80mL 培养,每样 3 个平行,培养 5d 后细胞计数测量生长率(存活藻长至指数生长期再次续代培养 5d 然后计算 K 值)。并取出 10mL 藻离心,然后用 5% KOH+ 30% 甲醇破坏叶绿素 5min,离心弃上清液收集藻体并研磨,随后在 30℃ 二甲基亚砜(DMSO)中抽提至藻体变白,用 752 紫外光栅分光光度计(490nm)测吸光度。虾青素含量计算参照文献[7]。

1.4 叶绿素及类胡萝卜素含量的测定

叶绿素及类胡萝卜素的提取、测定及含量计算参照文献[8]。

1.5 酶活性的测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定用 NBT 光化学还原法、过氧化氢酶(CAT)活性测定用紫外吸收法^[8]; 过氧化物酶(POD)活性测定用愈创木酚氧化法^[9]。

1.6 细胞超微结构研究

分别取指数生长期未处理藻(对照组)和辐射 5min 后的存活藻各 20mL 离心集藻,用 2.5% 戊二醛固定 2h,1% 锇酸后固定 1h,2% 醋酸铀水溶液染色 30min,乙醇梯度脱水,丙酮渗透,环氧树脂包埋聚合,超薄切片后用 2% 醋酸铀水溶液染色 20min,枸橼酸铅复染 15min,干燥后 TECNAI10 透射电镜 80kV 高压下观察拍照。

2 结果

2.1 紫外辐射对雨生红球藻的致死效应

3d、6d 时的观察结果表明: 低剂量紫外辐射即对雨生红球藻有致死效应, 而且随着辐射时间的延长, 致死效应加重, 辐射 8min 时, 致死率达到 100% (表 1)。死亡细胞形状不再呈现水滴状或椭圆形, 原生质体和细胞壁之间的较宽的间隙消失, 在光镜下整个细胞表现为均质化的浅绿色, 而且形状不规则。

表 1 不同紫外辐射时间的致死率

Tab. 1 Lethal rate of *H. pluvialis* exposed to ultraviolet with different time

照射时间 (min) illumination time	致死率 (%) lethal rate		照射时间 (min) illumination time	致死率 (%) lethal rate		照射时间 (min) illumination time	致死率 (%) lethal rate	
	3d	6d		3d	6d		3d	6d
0	0	0	2.5	42.7	67.9	5	89.5	87.5
0.5	14.4	11.3	3	60.0	79.6	6	93.7	93.2
1	20.3	11.7	3.5	55.1	83.3	7	96.1	97.9
1.5	21.0	26.2	4	66.5	81.9	8	100	100
2	40.7	52.0	4.5	81.2	86.6			

2.2 紫外辐射对雨生红球藻生长影响

由于紫外线对雨生红球藻的致死效应, 导致在培养过程中一些细胞相继死亡, 因此, 紫外线辐射 1min 藻其生长 K 值较对照组显著的降低 (LSR 法 q 检验即 Newman-Keuls 法, $P < 0.05$), 辐射时间超过 1min 的藻其生长 K 值都较对照组极显著的降低 (NK 法, $P < 0.01$), 而且辐射时间越长, K 值下降越明显 (图 1)。存活下来的抗性藻株的生长试验证明, 低剂量紫外线辐射 (1~ 4min) 能极显著的刺激雨生红球藻的生长 ($P < 0.01$), 在辐射时间 4min 时生长 K 值达到最大; 随后随着辐射时间的延长生长 K 值下降, 5min 辐射有抑制效应, 但不显著 ($P > 0.05$, 图 2)。

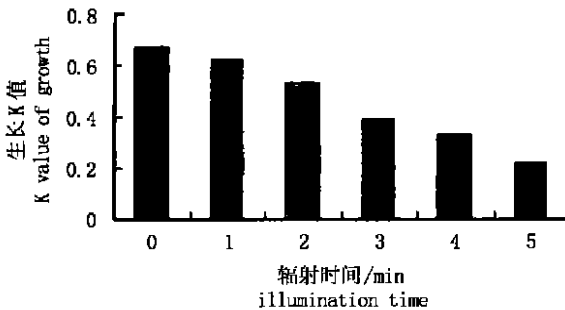


图 1 紫外辐射对雨生红球藻生长的影响

Fig. 1 Effect of ultraviolet radiation on growth of *H. pluvialis*

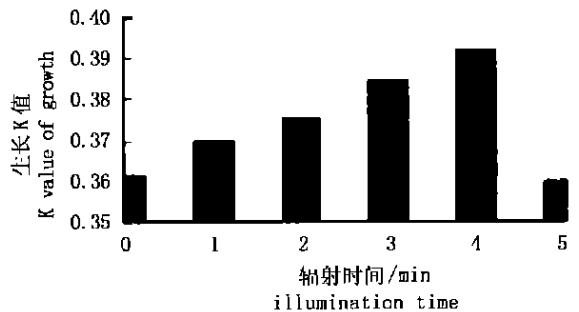


图 2 存活抗性藻株的生长模型

Fig. 2 Growth model of the survivor algae radiated with ultraviolet radiation

2.3 紫外线辐射对雨生红球藻色素含量的影响

紫外线辐射对藻液中叶绿素和类胡萝卜素含量有降低作用, 随着辐射时间的延长, 含量下降越快。与此相反, 细胞叶绿素和类胡萝卜素含量全部上升, 随着辐射时间的延长, 上升幅度增加, 在辐射 5min 后, 甚至增加了好几倍 (表 2)。Newman-Keuls 法检验表明, 低剂量的紫外辐射对红球藻细胞中的虾青素含量影响不显著 ($P > 0.05$), 但辐射 4min、5min 后存活细胞中虾青素的含量较对照组显著的增加 ($P > 0.05$); 而紫外线辐射 1~ 5min 均能使藻液中虾青素含量极显著的降低 ($P < 0.01$, 图 3)。

表2 紫外辐射对雨生红球藻色素含量的影响
Tab.2 Effect of ultraviolet radiation illumination on pigment content of *H. phuidis*

辐射时间(min) illumination time	藻液色素含量降低幅度(%) decrease of pigment content in culture				细胞色素含量增加幅度(%) increase of pigment content in cell			
	叶绿素 a chl a	叶绿素 b chl b	总叶绿素 chl	类胡萝卜素 carotenoid	叶绿素 a chl a	叶绿素 b chl b	总叶绿素 chl	类胡萝卜素 carotenoid
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0.779	6.997	2.631	8.235	24.435	16.637	22.112	15.085
2	10.278	6.252	9.079	30.261	56.836	63.873	58.932	21.905
3	37.110	826.640	33.996	37.437	92.131	124.144	101.668	91.155
4	41.043	30.582	37.927	41.407	128.576	169.131	140.657	127.162
5	42.142	31.544	38.985	51.918	254.542	319.484	273.888	194.634

2.4 紫外线辐射对雨生红球藻中抗氧化酶活性的影响

Newman-Keuls 法检验表明: 紫外线辐射 1~4min 能极显著的增强雨生红球藻的 SOD 活性 ($P < 0.01$), 但紫外线辐射 5min 时会造成 SOD 失活(图 4)。紫外辐射 1~2min 对红球藻中 POD 活性影响不大($P > 0.05$), 但辐射 3~5min 能极显著的增强 POD 活性($P < 0.01$, 图 5)。紫外辐射可使红球藻中 CAT 活性降低但不显著($P > 0.05$), 紫外线辐射 5min 时会造成 CAT 失活(图 6)。

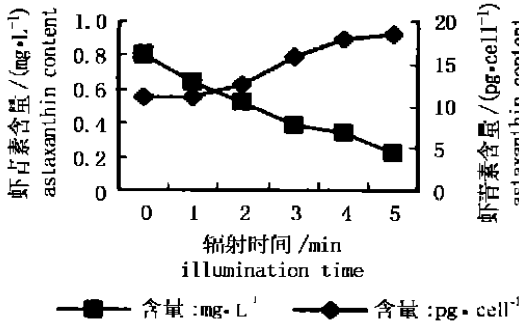


图3 紫外辐射对雨生红球藻虾青素含量的影响
Fig.3 Effect of ultraviolet radiation on astaxanthin content of *H. phuidis*

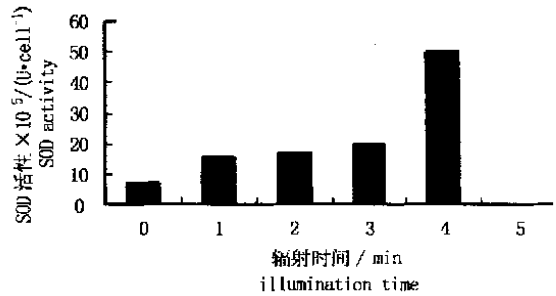


图4 紫外辐射对雨生红球藻 SOD 活性的影响
Fig.4 Effect of ultraviolet radiation on SOD activity of *H. phuidis*

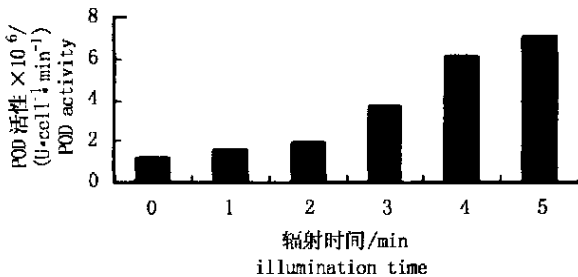


图5 紫外辐射对雨生红球藻 POD 活性的影响
Fig.5 Effect of ultraviolet radiation on POD activity of *H. phuidis*

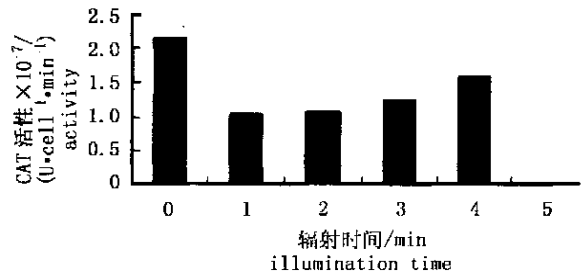


图6 紫外辐射对雨生红球藻 CAT 活性的影响
Fig.6 Effect of ultraviolet radiation on CAT activity of *H. phuidis*

2.5 紫外辐射对红球藻超微结构的影响

对照组的藻细胞具有典型的真核植物细胞的结构, 外围一圈较薄的细胞壁, 双层原生质膜与细胞壁之间隔开较大的间隙, 中间有透明乳胶物填充(图版- 1), 细胞核一般位于细胞中心位置, 有明显的核膜

和单个核仁。叶绿体周缘状, 整个叶绿体一般由 2~ 5 个大液泡隔开成两大块(图版- 2, 3), 叶绿体大部分由单层类囊体整齐排列而成, 少部分由 26 条类囊体集成一束(图版- 4)。淀粉粒数量较多, 分布在类囊体之间。蛋白核最多可见两个, 外有一层密闭淀粉鞘包围(图版- 3, 5), 光滑内质网和游离核糖体比较常见, 光滑内质网数量较多(图版- 6, 7)。线粒体不多, 椭圆形, 嵴通常只有 2~ 3 条, 双层膜结构完整, 一般分布于原生质膜 4 周(图版- 8), 其它部位少见。高尔基体结构很典型, 由 37 层扁平囊构成, 位于细胞核附近, 但数量很少(图版- 9)。

处理组细胞结构有较大损伤, 细胞壁变得宽而疏松, 双层膜破裂, 一些膜上线粒体掉入质壁缝隙中(图版- 10)。周缘状叶绿体不再由液泡分开, 而是粘联成团, 液泡数量增多但单个体积变小, 被压迫在类囊体和细胞核的周隙中, 类囊体间隙分布淀粉颗粒急剧增多, 密布整个叶绿体, 但积累的淀粉又渐渐消失, 只留下小粒致密电子颗粒。蛋白核数量也增多至 4 个, 但包围着蛋白核的淀粉鞘分解消失(图版- 11)。叶绿体遭到严重破坏, 类囊体条断裂、弯曲, 双层膜内内含物流出, 上面密布电子致密小颗粒(图版- 12, 13)。线粒体膨胀, 双层膜瓦解, 嵴数量变多, 且体积也增大(图版- 13)。光滑内质网膨大, 但数量明显减少(图版- 14), 高尔基体只依稀见轮廓, 垛叠的扁平囊双层膜已不存在, 只在原处留下裸露的中等电子密度的小颗粒, 高尔基小泡、高尔基液泡等结构均已消失(图版- 15)。

3 讨论

紫外线对细胞的有害作用主要在于细胞中有很多物质能吸收紫外线, 如核酸及其碱基、蛋白质、DNA 等。紫外辐射可引起 DNA 损伤, 使 DNA 分子产生胸腺嘧啶二聚体、环丁嘧啶二聚体及 6, 4 光产物等^[10], 还可损伤各种蛋白质、核酸和核糖体等, 当生物体中一些转录因子和一些修复性蛋白未被激活或者缺失时, 很易造成生物体死亡。研究发现很低剂量的紫外线辐射即对雨生红球藻有致死作用。辐射 1min 致死率就达到 11.7%, 辐射 2min 就达到半致死剂量, 辐射 8min 就可以使雨生红球藻细胞全部死亡。

在诱变育种中, 致死率的计算是很重要的, 有效的诱变剂量通常要根据其对应的致死率决定。藻类的诱变育种中通常把 50% ~ 80% 的致死率对应剂量作为合适的诱变剂量, 适宜诱变剂量通常是产生有益突变的保证。一般藻类致死率的计算在诱变处理 2~ 3d 后^[11, 12], 同时记录紫外辐射 3d, 6d 后的致死率, 比较结果后发现, 6d 时低剂量组死亡率降低, 而高剂量组死亡率升高, 这表明 3d 时低剂量组有些细胞虽然不动, 而且颜色也接近死亡细胞呈现的浅绿色(可能是胁迫适应), 但 6d 时又能存活过来; 而 3d 时高剂量组有些细胞虽然还可以缓慢转动, 但终会死亡。因此可以认为辐射 6d 后死亡细胞数目更趋于稳定, 而且藻液中也未见有死亡细胞分解的碎片。因此建议雨生红球藻的诱变致死率的确定应在诱变处理 6d 后进行。根据 50% ~ 80% 的致死率对应剂量较适合正突变的产生的传统观点, 6d 时的观察结果表明, 紫外线辐射 2~ 3.5min 较利于雨生红球藻的正突变产生。

研究发现, 紫外线对红球藻有双重功效, 既有很强的致死效应, 又有明显的促生长作用。而且辐射 4min 以内存活抗性藻株的生长率随着致死率的增加而增加, 以至于在致死率达到 81.9% 时, 存活抗性藻株仍高出对照组生长率 30%。这可能是由于紫外线在诱导修复基因转录过程中, 与生长因子共用一些细胞内成分, 而且紫外线通过氧化应激机制损伤生物膜和其它细胞内成分如蛋白质和核糖体等的修复可能是通过新生成这些物质来完成^[13], 作者通过 TEM 也观察到处理过的藻细胞内散在大量核糖体, 这种修复机制就有可能造成生物体的生长受到刺激而加快。紫外辐射 5min 不再刺激雨生红球藻的生长, 由 TEM 观察结果和酶活性的结果可以看出, 紫外线辐射 5min 不但对细胞的各种细胞器造成了不可逆的损伤, 而且使细胞内两种重要的抗逆境酶 SOD 和 CAT 失活, 从而大大降低了雨生红球藻对不良环境的抵御能力, 使得红球藻细胞内活性氧积累的动态平衡遭到破坏, 从而使生长能力下降。

叶绿素和类胡萝卜素是微藻最主要的光合色素。少部分叶绿素 a 具有光化学反应活性即能进行电荷分离, 称为反应中心叶绿素 a, 绝大部分叶绿素 a、全部叶绿素 b 及全部其它色素分子仅起吸收光能与传递能量的作用, 它们没有光化学反应活性, 故将它们称为天线色素^[14]。研究发现, 紫外线辐射对藻液

中叶绿素和类胡萝卜素含量有降低作用,而对细胞叶绿素和类胡萝卜素含量积累有增加作用,在辐射5min后,甚至增加了好几倍。Carl和Terence^[15]研究了B族紫外线对石莼的辐射效应,发现经过辐射的石莼切段其单位湿重中叶绿素a和类胡萝卜素的含量都明显增加。Irina和Eduard^[16]研究了高剂量可见光和紫外线对潮间带海藻的辐射效应,也发现在生长抑制阶段藻体内叶绿素a和类胡萝卜素含量提高。这说明紫外线辐射不但不会抑制红球藻细胞中叶绿素a和类胡萝卜素的合成,反而有促进他们积累的作用。叶绿素a的含量增加必将使得细胞中光合效率增加,光合产物的快速积累必将使细胞的生长和繁殖周期加快,使群体生长速率K增大。类胡萝卜素可以保护叶绿素分子在过强光中不会遭受过多的光氧化,Irina和Eduard^[16]发现海藻中类胡萝卜素的含量在一定范围内随着胁迫强度的增大而增大,与本文研究结果相一致。

在强光环境下,红球藻常大量积累虾青素抵制强光辐射引起的氧化损伤,开始时只是在细胞核四周的一些脂质囊泡中积累,随后扩大到整个细胞甚至溢出细胞外。研究结果表明,低剂量的紫外线辐射对雨生红球藻中虾青素含量没有太大影响,紫外线辐射4min、5min可以显著的增加细胞中虾青素的含量($P < 0.05$)。Kobayashi等^[17]发现红光有利于红球藻的生长,但不利于藻体中虾青素的合成,而蓝光较有利于红球藻的合成。本文证实紫外光也有利于红球藻细胞中虾青素的合成,而相对于红光来说,蓝光和紫外光都属于短波长光,因而可以推测短波长光较有利于红球藻中虾青素的合成。

紫外辐射造成的细胞损伤主要是由紫外辐射在雨生红球藻体内产生的活性氧引起^[18]。刘成圣和唐学玺^[19]也发现UVB辐射可以使三角褐指藻产生大量的超氧阴离子自由基。植物体内活性氧清除主要依靠酶系统和一些抗氧化物质,SOD、CAT和POD是一个最重要的活性氧清除酶系统,SOD将超氧阴离子自由基歧化成 H_2O_2 ,抑制Haber Weiss反应,再由CAT和POD将 H_2O_2 分解成 H_2O ^[20]。另外虾青素也是雨生红球藻内一种重要的活性氧清除剂,富含虾青素的静孢子比游动细胞能更有效的淬灭超氧阴离子自由基^[21]。本文研究发现,在紫外线辐射胁迫环境中,雨生红球藻细胞中SOD活性、POD活性、类胡萝卜素、虾青素能同时升高来抵御紫外线辐射造成的氧化损伤,但是各种保护机制敏感程度并不一样,类胡萝卜素和虾青素只是略微提升,而SOD和POD活性提升幅度却很大,CAT活性反而降低。由此可见,对紫外线辐射所造成的活性氧积累,CAT不起清除作用,类胡萝卜素和虾青素只是起次要清除作用,而真正起主要清除作用的仍旧是细胞内的SOD和POD。所以辐射5min导致SOD和CAT失活时,必将使细胞内活性氧的动态平衡遭到破坏,使细胞器受到损伤。TEM观察发现,细胞内所有细胞器的膜包括双层细胞膜都受到极严重的破坏,膜内电解质流出细胞器,这也正是遭受活性氧损伤的典型症状。植物受干旱、高温等环境胁迫时可溶性糖会增加^[22],经过紫外线处理的红球藻类囊体上淀粉粒也出现先增加后消失的现象,开始时的淀粉颗粒增加可能是为了和虾青素一起形成一道屏障抵制紫外线的破坏,等细胞内的活性氧增加后,淀粉粒又转化为可溶性糖,甚至连蛋白核外的淀粉鞘都消失转化。紫外辐射5min后细胞结构被明显破坏的藻株,生长率不及对照组高,但也能生长良好,这可能是维持细胞生长代谢的关键酶并没有被紫外线辐射损伤的缘故。

参考文献:

- [1] Boushiba S, Bing W, Yuan J P, et al. Changes in pigments profile in the green alga *Haematococcus pluvialis* exposed to environmental stresses [J]. *Biotechnology Letters*, 1999, 21(7): 601-604.
- [2] Fabregas J, Dominguez A, Regueiro M, et al. Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, 53(5): 530-535.
- [3] Hagen C, Gruenewald K, Xylaender M, et al. Effect of cultivation parameters on growth and pigment biosynthesis in flagellated cells of *Haematococcus pluvialis* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2001, 13(1): 79-87.
- [4] Zhuang H R, Lu H S, Chen B L, et al. Astaxanthin accumulation in vegetative cell of *Haematococcus pluvialis* [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 2001, 25(4): 376-380. [庄惠如, 卢海声, 陈必链, 等. 雨生红球藻营养细胞的虾青素积累[J]. *水生生物学报*, 2001, 25(4): 376-380.]
- [5] Cai X. Descendibility and breeding of plant (2nd edition) [M]. Beijing: Science Press, 1988. 536-573. [蔡旭. 植物遗传育种学(第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 1988. 536-573.]
- [6] Aquasearch. Astaxanthin as an antioxidant: a summary [R]. The Astafactor Technical Report, 2000.

- [7] Davis B H. Chemistry and biochemistry of plant pigments(2nd edition)[M]. Academic Press, London, 1976. 149- 155.
- [8] Zhou Q. Experimentation direction of plant physiology[M]. Beijing: China Agriculture Publishing Company, 2000. 72- 75, 163- 160. [邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 72- 75; 163- 170.]
- [9] Teaching and Research Group of Biology Department of HDTU. Experimentation direction of plant physiology[M]. Beijing: Demos Education Press, 1982. 143- 144. [华东师范大学生物系植物生理教研组主编. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 人民教育出版社, 1982. 143- 144.]
- [10] Verhage R A, Zeeman A, Lombaerts M, et al. Analysis of gene and strand-specific repair in the moderately UV-sensitive *Saccharomyces cerevisiae* rad23 mutant[J]. *Mutat Res*, 1996, 155- 165.
- [11] Zhuang H R, Wang M Z, Chen B L, et al. Response of *Haematococcus pluvialis* to UV light and screening of high astaxanthin productive mutants[J]. *Journal of Fujian Teachers University (Natural Science)*, 2001, 17(3): 76- 80. [庄惠如, 王明兹, 陈必链, 等. 雨生红球藻对紫外光处理的响应及高产藻株的选育[J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 17(3): 76- 80.]
- [12] Huang J, Tang X X, Wang R Q. Toxic effect of anthracene on three species of marine microalga[J]. *Acta Phytocool Sin*, 2000, 24(6): 736- 738. [黄健, 唐学玺, 王仁卿. 蒽对 3 种海洋微藻致毒效应的研究[J]. *植物生态学报*, 2000, 24(6): 736- 738.]
- [13] Sun X M, Yu Y N. UV response does not equal to DNA damage response[J]. *Prog Biochem Biophys*, 1996, 23(6): 564- 567. [孙雪敏, 余应年. UV 反应不一定等同与 DNA 损伤反应[J]. *生物化学与生物物理进展*, 1996, 23(6): 564- 567.]
- [14] Hall D O, Rao K K. Photosynthesis[M]. Beijing: Science Press, 1982. 18- 25.
- [15] Carl W G, Terence M M. Solar ultraviolet-B radiation effects on growth and pigment composition of the intertidal alga *Ulva expansa* (S. & G.) [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1998, (225): 39- 51.
- [16] Irina M Y, Eduard A T. Effect of high visible and UV irradiance on subtidal *Chondrus crispus*: stress, photoinhibition and protective mechanisms[J]. *Aquatic Botany*, 2001, (71): 47- 61.
- [17] Kobayashi M, Kakizono T, Yamaguchi K, et al. Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis*[J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1992, 74(1): 61- 63.
- [18] Hagen C, Braune W, Greulich F. Functional aspects of secondary carotenoids in *Haematococcus laevis*(Görod) Rostafinski (Volvocales) IV. protection from photodynamic damage[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 1993, 20(2- 3): 153- 160.
- [19] Liu C S, Tang X X. Deesterification damage of *Phaeodactylum tricornutum* caused by UVB radiation[J]. *Marine Fisheries Research*, 2002, 23(3): 37- 40. [刘成圣, 唐学玺. UVB 辐射对三角褐指藻的膜脂脱脂化伤害[J]. *海洋水产研究*, 2002, 23(3): 37- 40.]
- [20] Zhang X L, Shi G X, Xu N, et al. Effect of mercury and cadmium on some of physiological indicators of Chara[J]. *Journal of Nanjing Normal University (Nature science)*, 2002, 25(1): 38- 43. [张小兰, 施国新, 徐楠, 等. Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 对轮藻部分生理生化指标的影响[J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2002, 25(1): 38- 43.]
- [21] Kobayashi M, Kakizono T, Nishio N, et al. Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1997, 48(3): 351- 356.
- [22] Wang Z, Wang S G, Li H S, et al. Plant physiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999. 432- 442. [王忠, 王三根, 李合生, 等. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999. 432- 442.]

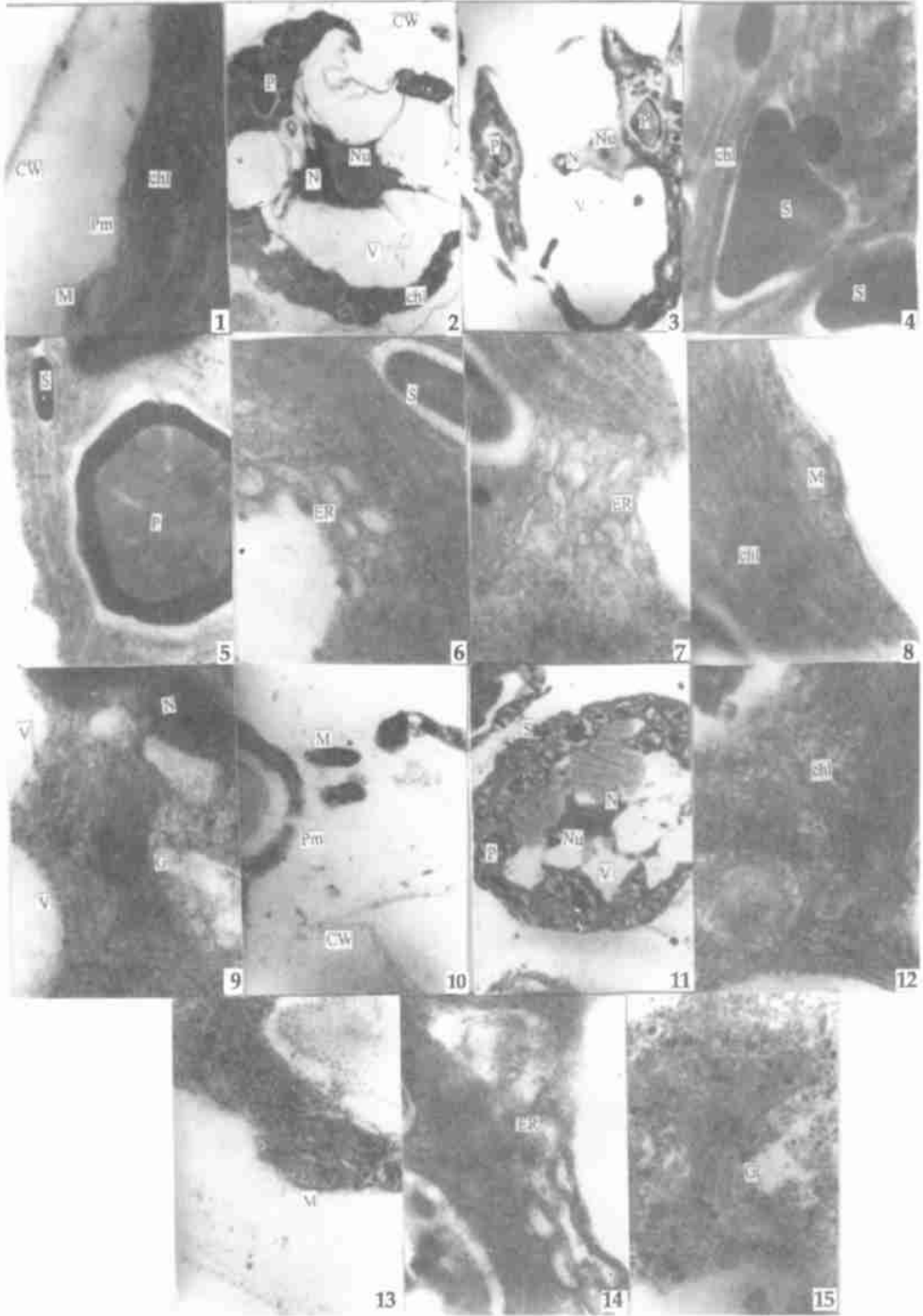
图版说明 Explanation of Plate

1. 正常细胞的细胞壁和双层细胞膜, $\times 34K$; 2. 正常细胞的完整结构, 有明显的核膜和核仁, $\times 2.9K$; 3. 正常细胞内两个蛋白核, $\times 2.9K$; 4. 正常细胞内成束类囊体, $\times 27K$; 5. 蛋白核及其密闭的淀粉鞘, $\times 17K$; 6- 7. 正常细胞的光滑内质网, $\times 44K$; 8. 沿着细胞膜分布的线粒体, $\times 44K$; 9. 细胞核附近的正常的高尔基体, $\times 44K$; 10. 细胞壁及双层膜受损的细胞, 示线粒体掉出, $\times 27K$; 11. 处理组细胞的淀粉粒和蛋白核 $\times 2.1K$; 12. 处理组细胞内叶绿体, $\times 73K$; 13. 处理组细胞中线粒体, $\times 73K$; 14. 处理组细胞中内质网, $\times 44K$; 15. 处理组细胞中高尔基体, $\times 73K$

CW: 细胞壁; Pm: 细胞膜; N: 细胞核; Nu: 核仁; chl: 叶绿体; M: 线粒体; G: 高尔基体; S: 淀粉粒; P 蛋白核; ER: 内质网; V 液泡

1. Cell wall and 2-layer cytolemma in control alga cell, $\times 34K$; 2. The control alga cell with cell nucleus and nuclear envelope, $\times 2.9K$; 3. Two pyrenoids in control alga cell, $\times 2.9K$; 4. Linked thylakoids in control alga cell, $\times 27K$; 5. Pyrenoid and its airtight starch sheath, $\times 17K$; 6-7. Smooth endoplasmic reticulum (SER) in control alga cell, $\times 44K$; 8. Plastosome around cytolemma, $\times 44K$; 9. Golgi body by the nucleolus in control alga cell, $\times 44K$; 10. The lacerated Cell wall and 2-layer cytolemma in the cell be exposed with plastosome falling off, $\times 27K$; 11. Starch grain and pyrenoid in the cell be exposed $\times 2.1K$; 12 Chloroplast in the cell be exposed, $\times 73K$; 13. Plastosome in the cell be exposed, $\times 73K$; 14. SER in the cell be exposed, $\times 44K$; 15. Golgi body in the cell be exposed, $\times 73K$

CW: cell wall; Pm: cytolemma; N: cell nucleus; Nu: nucleolus; chl: chloroplast; m: plastosome; G: Golgi body; S: starch grain; P: pyrenoid; ER: endoplasmic reticulum; V: vacuolus



图版 Plate