



引用格式: 王璇, 王宇涵, 唐运来, 等. 铀对 2 种小球藻生长和光合作用的影响[J]. 西北植物学报, 2024, 44(1): 0088-0097. [WANG X, WANG Y H, TANG Y L, et al. Effects of uranium on the growth and photosynthesis of two types of *Chlorella vulgaris*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2024, 44(1): 0088-0097.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20230365

## 铀对 2 种小球藻生长和光合作用的影响

王 璇<sup>1</sup>, 王宇涵<sup>1</sup>, 唐运来<sup>1,2\*</sup>, 陈 梅<sup>1,2</sup>

(1 西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010; 2 西南科技大学 核废物与环境安全国防重点学科实验室 四川绵阳 621010)

**摘 要** 【目的】探究铀对藻类生长及光合作用的影响, 筛选新的基于光合作用的水体铀污染生态风险评价指标。【方法】采用不同浓度铀(0, 0.5, 1, 5, 10, 20 mg/L  $U^{6+}$ ) 分别处理普通小球藻(*Chlorella vulgaris*) 和黄龙普通小球藻 2 种来自不同生境的微藻, 在处理后的第 3, 5, 7, 10, 14 天进行相对生长速率、光合放氧速率、叶绿素含量和叶绿素荧光动力学参数等指标的测定。【结果】(1) 0.5 mg/L 低浓度铀处理显著促进 2 种小球藻的生长和光合作用效率, 表现为 2 种微藻的相对生长速率、光合放氧速率、光系统 II 最大光化学量子产量( $F_v/F_m$ )、实际光化学量子产量[Y(II)]、相对电子传递速率(rETR)等叶绿素荧光参数均显著高于对照, 而 5~20 mg/L 高浓度铀处理则显著抑制 2 种小球藻的生长和光合作用;(2) 黄龙普通小球藻比普通小球藻对铀处理更敏感, 在 1 mg/L 处理浓度下生长与光合作用就受到显著抑制, 可以作为水体铀污染生物监测的指示生物;(3) 回归分析表明, 不同浓度铀处理下, 叶绿素荧光参数 Y(II) 和 rETR 的响应速度快于相对生长速率、光合放氧速率、叶绿素含量和  $F_v/F_m$  等指标, 可以作为水体铀污染生态风险评价的敏感指标。【结论】铀对小球藻的生长和光合作用表现出低促高抑的浓度效应, 且黄龙小球藻对铀污染更敏感, 可将黄龙小球藻和叶绿素荧光动力学参数 Y(II) 和 rETR 结合起来应用于水体铀污染的生态风险评价。

**关键词** 铀; 普通小球藻; 生长; 光合作用; 叶绿素荧光

**中图分类号** Q945.11; Q945.78 **文献标志码** A

## Effects of uranium on the growth and photosynthesis of two types of *Chlorella vulgaris*

WANG Xuan<sup>1</sup>, WANG Yuhuan<sup>1</sup>, TANG Yunlai<sup>1,2\*</sup>, CHEN Mei<sup>1,2</sup>

(1 School of Life Sciences, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 2 State Defense Key Laboratory of the Nuclear Waste and Environmental Security, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621000, China)

**Abstract** [Objective] In order to explore the impact of uranium on algae growth and photosynthesis, and to screen new ecological risk assessment indicators for uranium pollution in water bodies based on photosynthesis. [Methods] This experiment used different concentrations of uranium (0, 0.5, 1, 5, 10, 20 mg/L  $U^{6+}$ ) to treat two types of microalgae, chlorella (*Chlorella vulgaris*) and Huanglong chlorella, from different environments. The relative growth rate, photosynthetic oxygen release rate, chlorophyll con-

收稿日期: 2023-06-07; 修改稿收到日期: 2023-11-21

基金项目: 四川省科技厅重点项目(18ZS2104)

作者简介: 王 璇(1994-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事生物学研究。E-mail: 906296803@qq.com

\* 通信作者: 唐运来, 博士, 副教授, 主要从事核污染生物效应与生态修复领域的教学和科研工作。E-mail: tyl@swust.edu.cn

tent, and chlorophyll fluorescence kinetic parameters were measured on the 3rd, 5th, 7th, 10th, and 14th days after treatment. [Results] (1) Low concentration uranium (0.5 mg/L) treatment significantly promoted the growth and photosynthetic efficiency of the two types of microalgae, where the relative growth rate, photosynthetic oxygen release rate, maximum photochemical quantum yield ( $F_v/F_m$ ) of photosystem II, actual photochemical quantum yield  $Y(II)$ , and relative electron transfer rate (rETR) of the two microalgae were significantly higher than the control. However, high concentration uranium treatment (5–20 mg/L) significantly inhibited the growth and photosynthesis of the two types of chlorella. (2) Huanglong chlorella was more sensitive to uranium treatment than chlorella, and its growth and photosynthesis were significantly inhibited at 1mg/L, and it could be used as an bioindicator for monitoring of uranium pollution in water bodies. (3) Regression analysis showed that under different concentrations of uranium treatment, the response speed of chlorophyll fluorescence parameters  $Y(II)$  and rETR was faster than the changes in relative growth rate, photosynthetic oxygen release rate, chlorophyll content, and  $F_v/F_m$ , which could be used as sensitive indicators for ecological risk assessment of uranium pollution in water bodies. [Conclusion] Uranium exhibits a concentration effect on the growth and photosynthesis of chlorella, where low concentrations promote growth while high concentrations inhibit growth. Huanglong chlorella is more sensitive to uranium pollution. Therefore, the combination of Huanglong chlorella and chlorophyll fluorescence kinetic parameters  $Y(II)$  and rETR can be applied for the ecological risk assessment of uranium pollution in water bodies.

**Key words** uranium; *Cholorella vulgaris*; growth; photosynthesis; chlorophyll fluorescence

目前,核技术广泛应用于工业、农业、军事、医疗及能源等行业领域,虽为人类带来了便利及巨大经济效益,但也导致大量放射性核素释放到环境中。环境中的放射性核素会破坏生态平衡,最终会随着食物链富集至人体内,危害人体健康。2011 年,日本福岛第一核电厂发生核泄漏事故,导致大量放射性核素释放到太平洋,海洋环境的放射性污染问题成为世人关注的焦点<sup>[1-2]</sup>。日本福岛核事故后,监测数据表明在 2011 至 2012 年从北太平洋公海渔场采集的所有鱼类样品中均含有放射性核素<sup>137Cs</sup><sup>[3]</sup>,中国也已将 U、<sup>137Cs</sup>、<sup>90Sr</sup> 等核素列为海洋放射性污染的主要监测对象<sup>[4]</sup>。最近,日本政府计划在 2023 年内把福岛核事故产生的 130 万 t 核废水排入太平洋,此举必将对海洋生态系统的稳定性和海洋生物多样性产生重大影响<sup>[5]</sup>。因此,开展水体放射性核素的生物学效应及生态风险评估研究,筛选放射性污染的指示生物和生物标志物,建立放射性污染生物监测技术体系具有重要的科学意义和实际应用价值<sup>[6-7]</sup>。

藻类和水生植物是水生态系统的重要组成部分,在水体放射性污染监测技术体系中具有重要作用和地位。目前国际上有一些将藻类和水生植物用于水体放射性污染生物监测的研究报道,如 Herlory 等<sup>[8]</sup>报道铀矿开采会引起周边水生态系统中硅藻群落的结构变化,硅藻可以作为水体铀污染的指示生物。Gosselin 等<sup>[9]</sup>研究发现波西多尼亚海草 (*Posidonia oceanica*) 可以作为水体重金属及核素

污染生物监测的指示生物,其在数月内可以精准地反映当前环境中核素及重金属的变化情况,但反映的精确性在较长时间后下降。而国内对于水体核素污染的风险评估与生物监测方面的研究非常少。

目前藻类生物监测技术主要通过筛选指示生物以及测定藻类的生长抑制率、生物种类多样性指数、硅藻生物指数等指标进行水质污染程度的评价<sup>[10-11]</sup>,具有测定周期较长、操作繁琐复杂、灵敏度差等缺陷。叶绿素荧光技术是近年来发展起来的一种可以应用于评价各种逆境胁迫对植物、藻类生物光合作用影响的新技术,具有无损检测和灵敏快速等优点<sup>[12]</sup>,将藻类生物监测技术与叶绿素荧光动力学技术相结合,可大大节省测定时间,提高生物监测的灵敏性<sup>[13]</sup>。因此,本试验选取模式微藻普通小球藻 (*Cholorella vulgaris*) 和从生态脆弱地区四川黄龙国家自然保护区采集的普通小球藻作为研究对象,分析不同浓度铀处理对 2 种微藻生长以及光合作用参数的影响,比较 2 种微藻对水体铀污染的响应差异,期望筛选出一些比较灵敏的基于光合作用的尤其是叶绿素荧光参数的水体铀污染生物监测指标,可以为水体铀污染的风险评价与生物监测技术提供一些新的理论依据和技术途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试验材料为 2 种来自于不同生境的普通小球藻

(*C. vulgaris*), 以及蓝藻 PCC6803 和莱茵衣藻。其中, 一种普通小球藻、蓝藻 PCC6803 和莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 来自中国科学院水生生物研究所, 另外一种普通小球藻由课题组从四川黄龙国家自然保护区采集的藻泥中分离纯化而来<sup>[14]</sup>, 经过初步鉴定为一种普通小球藻, 为了便于区分在本文中将其命名为黄龙小球藻。

1.2 试验设计

将分离纯化后的 4 种微藻在光照恒温摇床中进行扩增培养, 普通小球藻、蓝藻 PCC6803、莱茵衣藻的培养温度为 25 ℃, 黄龙小球藻的培养温度为 15 ℃, 光照度为 4 000 lx, 光/暗比为 12 h/12 h, 摇床转速为 90 r/min。本试验设置 0, 0.5, 1, 5, 10, 20 mg/L  $U^{6+}$  6 个铀处理浓度。用培养基将醋酸双氧铀  $UO_2(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  制成 100 mg/L  $U^{6+}$  的母液, 根据微藻的生长曲线选取生长状态良好一致的藻液 10 mL, 普通小球藻、黄龙小球藻、莱茵藻的藻液用 TAP 培养基与铀母液进行定容, 蓝藻 PCC6803 藻液采用 BG-11 培养基与铀母液进行定容。使各处理最终体积均为 50 mL。每种铀处理浓度均设置 5 次重复, 接种后按照每种藻设定的温度、光照度和光暗比放入光照恒温摇床中培养。在处理后的第 3, 5, 7, 10, 14 天取样测定各项指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 藻类相对生长速率

分光光度法是测定藻细胞密度最常用且技术最成熟的方法之一, 多种微藻的藻细胞密度在波长 680 nm 下与光密度呈直线关系<sup>[15]</sup>, 相关研究发现普通小球藻等绿藻的光吸收峰在 680 nm 处, 蓝藻 PCC6803 的光吸收峰波长为 720~730 nm 处<sup>[16]</sup>。根据文献及预实验确定普通小球藻、莱茵藻、黄龙小球藻光吸收峰波长也为 680 nm, 蓝藻 PCC6803 的光吸收峰波长为 720 nm。取 3 mL 藻液加入比色皿中, 测定普通小球藻、黄龙小球藻、莱茵藻在 680 nm 处的吸光度  $A_{680}$ , 及蓝藻 PCC6803 在 720 nm 处的吸光度  $A_{720}$ , 根据  $A_{680}$  和  $A_{720}$  值绘制 4 种藻类相对生长速率的曲线图。

1.3.2 藻类光合放氧速率

采用 Chlorolab2 液相氧电极 (Hansatech, 英国) 测定藻类的光合放氧速率。测试前, 将样品藻液置于饱和光强下适应 30 min。反应杯中测试样品藻液体积为 2 mL, 测量光照强度为 800  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.3.3 藻类叶绿素含量

采用热乙醇提取法提取藻类叶绿素 a、叶绿素

b, 并采用分光光度法测定含量。取 3 mL 藻液于 10 mL 离心管中, 12 000 r/min 下离心 5 min, 去掉上清液后, 加入 5 mL 95% 乙醇重新悬浮藻饼, 并用锡纸包裹离心管后置于 4 ℃ 冰箱冷藏过夜。次日将离心管置于 55 ℃ 水浴锅中水浴加热 60 min, 后于 12 000 r/min 下离心 5 min, 用 95% 乙醇定容至 5 mL, 用移液枪吸取 3 mL 叶绿体色素提取液于比色皿内, 以 95% 乙醇为空白, 分别在波长 665 nm、649 nm 下测定吸光度值  $A_{665}$  和  $A_{649}$  值。根据公式 (1)、(2) 分别计算普通小球藻、黄龙小球藻的叶绿素 a ( $C_a$ , mg/L) 和叶绿素 b ( $C_b$ , mg/L) 含量。

$$C_a = 9.784A_{665} - 0.990A_{649} \tag{1}$$

$$C_b = 21.426A_{649} - 4.65A_{665} \tag{2}$$

1.3.4 藻类叶绿素荧光参数

采用 Dual Pam-100 双通道调制叶绿素荧光仪 (WALZ, 德国) 测定藻类的叶绿素荧光参数。测量前先进行 30 min 暗适应, 采用 Induction Curve 测定程序, 测量光照强度为 229  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 作用光照强度为 855  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 饱和脉冲光照强度为 5 000  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。分别测定  $F_0$ 、 $F_m$ 、 $F$ 、 $F_0'$  和  $F_m'$  等参数并计算得到光系统 II 最大光化学量子产率 ( $F_v/F_m$ )、实际光化学量子产率 [ $Y(\text{II})$ ] 和光系统 II 相对电子传递速率 (rETR) 等叶绿素荧光动力学参数<sup>[17-18]</sup>。

1.4 数据分析

采用 Excel 软件对数据进行整理, 使用 Origin 2021 软件作图并进行趋势分析, 所有数据使用 SPSS 27.0 软件进行显著性分析和多因素非线性回归分析并构建回归方程。

2 结果与分析

2.1 不同浓度铀对藻类相对生长速率的影响

如图 1 所示, 普通小球藻 (图 1, A)、黄龙小球藻 (图 1, B)、蓝藻 PCC6803 (图 1, C)、莱茵衣藻 (图 1, D) 4 种微藻相对生长速率在不同浓度铀处理下表现明显不同, 黄龙小球藻的生长速率在处理浓度间差异均较大, 其他 3 种微藻生长速率则均明显分为两组, 在低浓度 (对照、0.5 mg/L、1.0 mg/L) 处理下明显较高, 在高浓度 (5~20 mg/L) 处理明显较低。后续仅分析 2 种小球藻的生长速率和光合作用差异。

其中, 普通小球藻和黄龙小球藻的相对生长速率在 0.5 mg/L  $U^{6+}$  处理下始终显著高于同期对照 ( $P < 0.05$ ), 在 1 mg/L  $U^{6+}$  处理下第 7 天起均显著低于对照, 而且黄龙小球藻对铀处理的响应比普通小球藻

更敏感,受到促进或者抑制的程度更高,此时基本上停止生长。同时,2种小球藻的生长速率在高浓度铀(5~20 mg/L  $U^{6+}$ )处理下始终低于同期对照,均随着处理时间延长逐渐降低,受到显著抑制,且浓度越高受到

的抑制作用越大,黄龙小球藻受抑制更严重。可见,铀对2种小球藻生长的影响存在‘低促高抑’的浓度效应,在高于1 mg/L  $U^{6+}$  处理下就受到显著抑制,且黄龙小球藻更易受到影响,受影响的程度也更大。

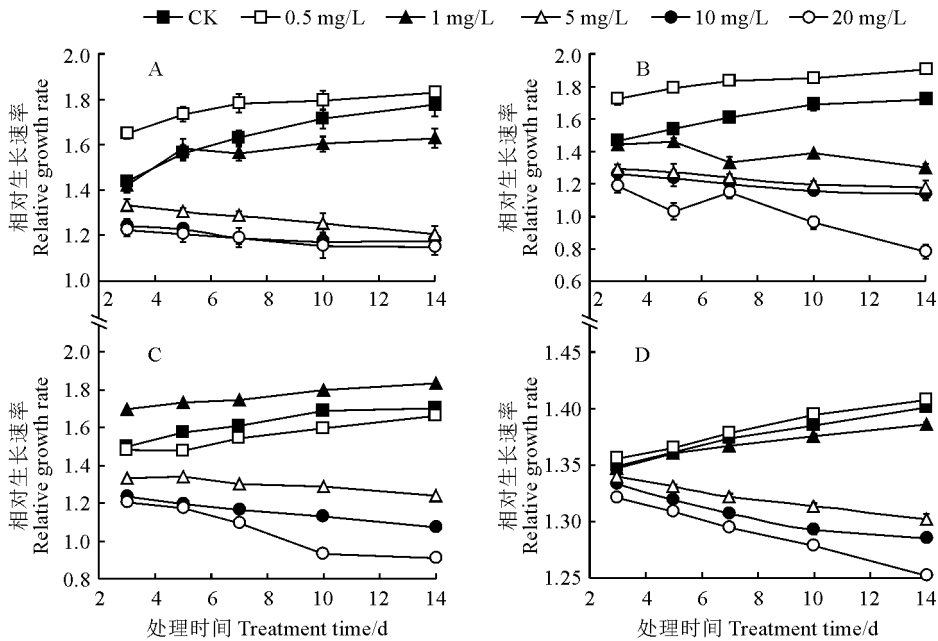


图1 不同浓度铀处理下普通小球藻(A)、黄龙小球藻(B)、蓝藻 PCC6803(C)和莱茵衣藻(D)相对生长速率的变化  
Fig.1 The relative growth rate of chlorella (A), Huanglong chlorella (B), synechocystis PCC6803 (C), and C. reinhardtii (D) under different uranium concentrations

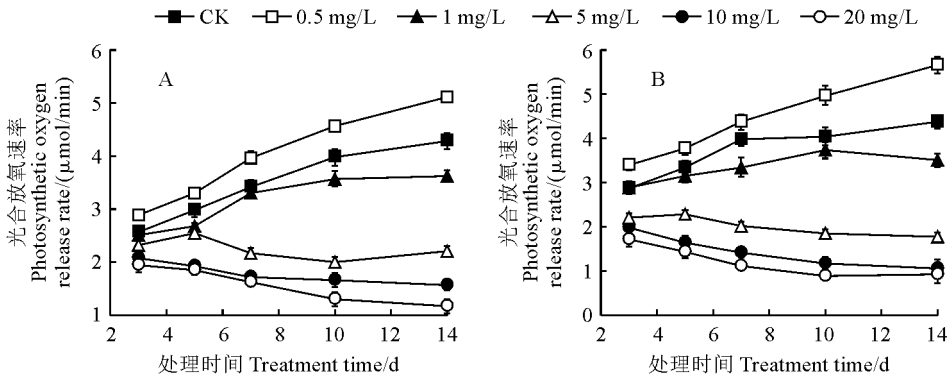


图2 不同浓度铀处理下普通小球藻(A)和黄龙小球藻(B)光合放氧速率的变化  
Fig.2 The photosynthetic oxygen release rate of chlorella (A) and Huanglong chlorella (B) under different uranium concentrations

2.2 不同浓度铀藻类光合放氧速率的影响

如图2所示,普通小球藻、黄龙小球藻的光合放氧速率在不同浓度铀处理下的变化趋势相似,即在CK、0.5 mg/L 和 1.0 mg/L  $U^{6+}$  处理下均随着处理时间延长呈上升趋势,而在其余浓度铀处理下却呈逐渐下降趋势;同时,2种小球藻的光合放氧速率在0.5 mg/L  $U^{6+}$  处理下均始终显著高于同期CK( $P < 0.05$ ),受到明显促进,但在5 mg/L 及以上浓度

铀处理下均不同程度低于同期CK,均受到显著抑制作用,且随着铀处理浓度的增加抑制程度越显著;但在相同铀浓度处理下,2种藻类之间光合放氧速率无显著差异( $P > 0.05$ )。

2.3 不同浓度铀对藻类叶绿素含量的影响

普通小球藻叶绿素a和叶绿素b含量均随着处理时间增加呈上升趋势,但在各浓度铀处理第14天时均不同程度低于相应对照,且此时各浓度处理叶



绿素 b 含量均与 CK 差异显著(图 3,A,B)。黄龙小球藻叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均随着处理时间的增加均呈先升后降的变化趋势(图 3,C,D)。其中,黄龙小球藻叶绿素 a 含量在 0.5~5 mg/L  $U^{6+}$  处理后 3~7 d 时比 CK 略高,在处理 10~14 d 时则显著高于 CK( $P<0.05$ ),但在 20 mg/L  $U^{6+}$  处理不同时期均显著低于 CK(图 3,C);黄龙小球藻叶绿素 b 含量在各浓度铀处理第 5 天时均显著低于对照,在 0.5~5 mg/L  $U^{6+}$  处理第 10 天起均显著高于同期 CK(图 3,D)。另外,在处理第 14 天时,2 种微藻间叶

绿素 a 含量在低浓度铀(0.5 mg/L  $U^{6+}$ )处理下无显著差异( $P>0.05$ ),但在高浓度铀(10~20 mg/L)处理下黄龙小球藻叶绿素 a 含量下降幅度较普通小球藻更大(图 3,A,C);在处理第 14 天时,黄龙小球藻叶绿素 b 含量在低浓度铀处理(0.5 mg/L  $U^{6+}$ )下较普通小球藻上升幅度更大,在高度铀(20 mg/L  $U^{6+}$ )处理下较普通小球藻下降幅度更大(图 3,B,D)。说明黄龙小球藻对铀胁迫的反应比普通小球藻更敏感,中低浓度(0.5~5 mg/L  $U^{6+}$ )铀处理有利于其叶绿素合成。

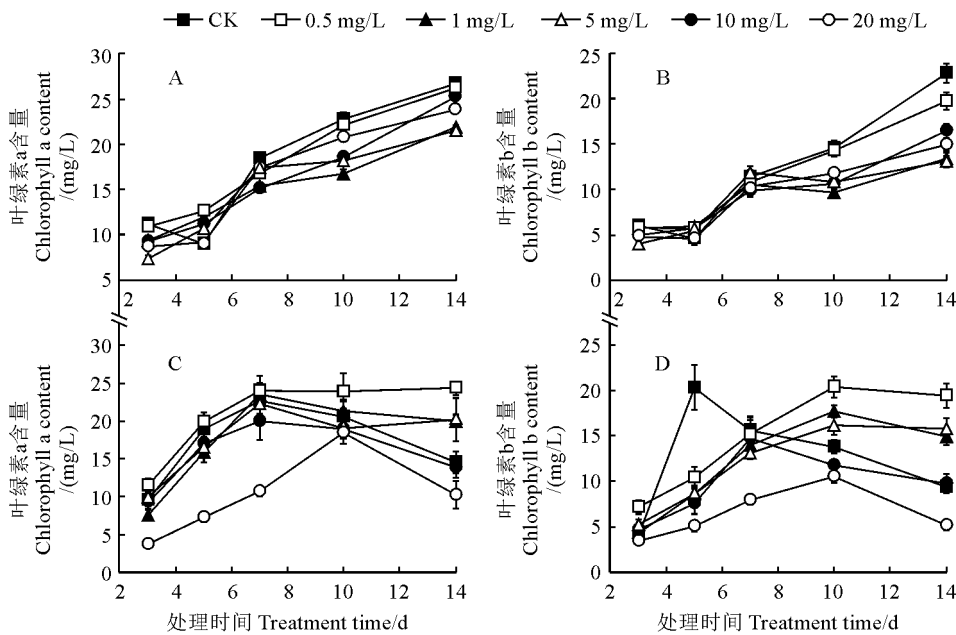


图 3 不同浓度铀处理下普通小球藻(A, B)和黄龙小球藻(C, D)叶绿素含量的变化  
Fig. 3 The chlorophyll content of chlorella (A, B) and Huanglong chlorella (C, D) under different uranium concentrations

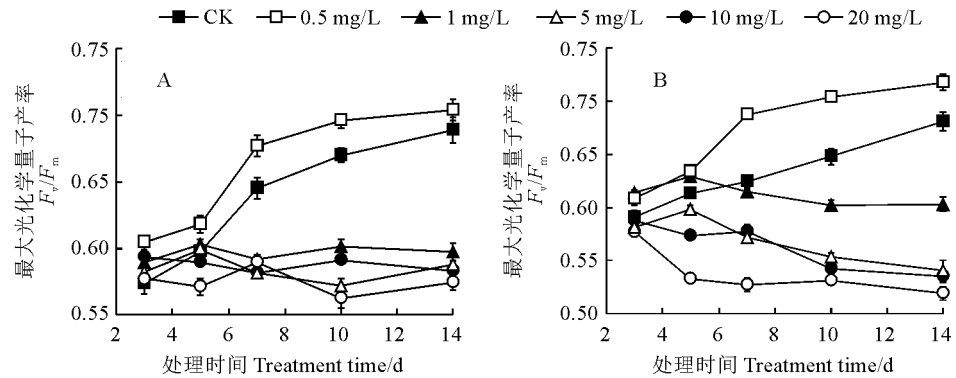


图 4 不同浓度铀处理下普通小球藻(A)和黄龙小球藻(B)  $F_v/F_m$  的变化  
Fig. 4 The  $F_v/F_m$  of chlorella (A) and Huanglong chlorella (B) under different uranium concentrations

2.4 不同浓度铀对藻类叶绿素荧光参数的影响

2.4.1 最大光化学量子产率

铀对 2 种小球藻光系统 II 最大光化学量子产率

( $F_v/F_m$ ) 值的影响呈明显的双重作用,即在 CK、0.5 mg/L  $U^{6+}$  处理下均随着处理时间延长呈上升趋势,而在其余浓度铀处理下呈逐渐下降趋势(图 4)。

其中,2 种普通小球藻的  $F_v/F_m$  在 0.5 mg/L  $U^{6+}$  处理下均显著高于同期 CK( $P<0.05$ ),并随处理时间增加均呈上升趋势,自处理第 7 天起,黄龙小球藻上升幅度较普通小球藻更大;2 种小球藻的  $F_v/F_m$  在 1 mg/L  $U^{6+}$  处理下就受到显著影响,并在处理后期均较 CK 组显著降低( $P<0.05$ );在 5~20 mg/L 高浓度铀处理 7 d 后,2 种小球藻的  $F_v/F_m$  均较同期 CK 显著降低,且降幅随处理时间而增加,黄龙小球藻比普通小球藻下降的幅度更大。

2.4.2 实际光化学量子产率

图 5 显示,2 种小球藻光系统 II 实际光化学量子产率[Y(II)]在 0.5 mg/L  $U^{6+}$  处理下均受到显著促进,并随着铀处理时间延长而增加,但处理第 14 天时 2 种藻类 Y(II)无显著差异( $P>0.05$ );在 1 mg/L  $U^{6+}$  处理下,普通小球藻 Y(II)在处理 3~

10 d 时仍显著高于同期 CK,但黄龙小球藻 Y(II)在处理第 7 天起较 CK 显著降低( $P<0.05$ ),且随处理时间增加抑制程度越严重,即在低浓度铀处理下,黄龙小球藻 Y(II)对铀处理比普通小球藻更敏感;2 种小球藻的 Y(II)在 5~20 mg/L  $U^{6+}$  处理 7 d 后均较同期 CK 显著下降,在处理第 14 天时,10~20 mg/L  $U^{6+}$  处理黄龙小球藻 Y(II)受抑制程度比普通小球藻更大。

2.4.3 相对电子传递速率

从图 6 可知,随着铀处理时间的增加,不同浓度铀处理普通小球藻、黄龙小球藻的光系统 II 相对电子传递速率(rETR)的变化趋势与 Y(II)表现基本一致,均表现为低浓度(0.5 mg/L)促进,高浓度(5~20 mg/L)抑制,且同样在 1 mg/L  $U^{6+}$  处理 7 d 后 2 种微藻 rETR 差异更明显。

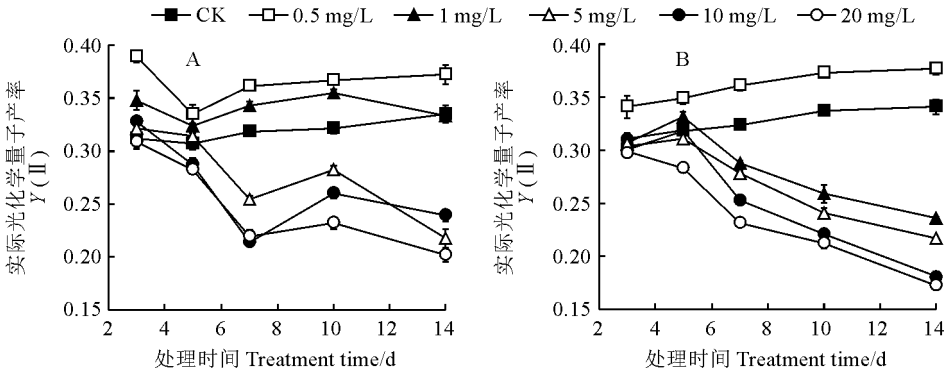


图 5 不同浓度铀处理下普通小球藻(A)和黄龙小球藻(B)Y(II)的变化  
Fig. 5 Y(II) of chlorella (A) and Huanglong chlorella (B) under different uranium concentrations

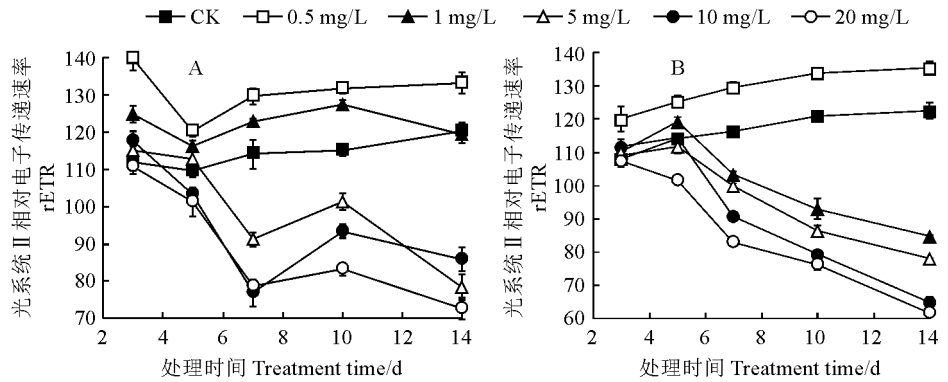


图 6 不同浓度铀处理下普通小球藻(A)和黄龙小球藻(B)rETR 的变化  
Fig. 6 rETR of chlorella (A) and Huanglong chlorella (B) under different uranium concentrations

2.5 不同参数对铀处理浓度响应差异的回归分析

黄龙小球藻比普通小球藻对铀处理更敏感,相对生长速率在 1 mg/L  $U^{6+}$  处理下就表现出显著的抑制效应(图 1)。此外,黄龙小球藻的光合放氧速率、叶绿素含量、叶绿素荧光参数均在 1 mg/L  $U^{6+}$

处理下表现出不同程度的抑制效应,因此,选择黄龙小球藻来评价藻类生长及光合参数对铀胁迫浓度的响应差异,为此建立相关回归模型。

由以上试验结果可知,铀浓度对黄龙小球藻 7 种参数指标均表现为低促高抑,且铀浓度拐点在 0

~1 mg/L 区间,通过 0~1 mg/L  $U^{6+}$  处理 3~14 d 的所有试验数据构建回归方程,发现该浓度下数据与二次函数拟合度最高,且存在最大值,根据拟合后 7 种参数的最大值即可判断各项指标开始下降时的铀浓度,继而找出对铀浓度变化敏感的参数。进一步将试验数据进行显著性分析可得,黄龙小球藻光系统 II 最大光化学量子产率( $F_v/F_m$ )、实际光化学量子产率[Y(II)]、相对电子传递速率(rETR)、相对生长速率( $A_{680}$ )、光合放氧速率、叶绿素 a 含量均与铀浓度存在极显著关系( $P<0.01$ ),叶绿素 b 含量与铀浓度存在显著关系( $P<0.05$ )。令  $F_v/F_m$ 、Y(II)、rETR、相对生长速率、光合放氧速率、叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量指标分别为  $y_1\sim y_7$ ,铀浓度指标为  $x_1$ ,处理时间为  $x_2$ ,则铀浓度在 0~1 mg/L

范围,处理 3~14 d 时与 7 种参数有显著性回归方程(表 1)。

根据回归方程(表 1)可知,光系统 II 最大光化学量子产率( $F_v/F_m$ )、实际光化学量子产率[Y(II)]、相对电子传递速率(rETR)、相对生长速率( $A_{680}$ )、光合放氧速率、叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量 7 种参数到达最大值时铀浓度分别为 0.48,0.41,0.41,0.42,0.45,0.43,0.46 mg/L,即大于此浓度时,7 种参数指标开始下降;为保证监测的便捷性与时效性,本试验时间维度最大值为 14 d,当自变量为时间时,3~14 d 范围内 7 个参数指标均未出现拐点,最大值均出现在第 14 天。根据不同参数的铀浓度拐点可知,实际光化学量子产率[Y(II)]、相对电子传递速率(rETR)较其他 5 种参数对铀浓度处理更敏感。

表 1 7 种参数与铀浓度在 0~1 mg/L 区间内的回归方程

Table 1 Regression equations between seven factors and uranium concentrations in the range of 0–1 mg/L

参数 Factors	回归方程 Regression equations	最大值处 $U^{6+}$ 浓度 $U^{6+}$ concentration at maximum value/(mg/L)	$R^2$
最大光化学量子产率( $F_v/F_m$ ) Maximum photochemical quantum yields	$y_1 = -0.166x_1^2 + 0.161x_1 + 0.00655x_2 + 0.580$	0.48	0.770
实际光化学量子产率[Y(II)] Actual photochemical quantum yields	$y_2 = -0.218x_1^2 + 0.178x_1 - 0.000233x_2 + 0.326$	0.41	0.623
光系统 II 相对电子传递速率(rETR) Relative electron transfer rate of PS II	$y_3 = -78.38x_1^2 + 64.09x_1 - 0.0835x_2 + 117.100$	0.41	0.623
相对生长速率( $A_{680}$ ) Relative growth rates	$y_4 = -1.301x_1^2 + 1.081x_1 - 0.00853x_2 + 1.539$	0.42	0.881
光合放氧速率 Photosynthetic oxygen release	$y_5 = -3.647x_1^2 + 3.253x_1 - 0.134x_2 + 2.681$	0.45	0.856
叶绿素 a 含量 Chlorophyll a contents	$y_6 = -13.190x_1^2 + 11.220x_1 + 0.680x_2 + 13.140$	0.43	0.319
叶绿素 b 含量 Chlorophyll b contents	$y_7 = -9.829x_1^2 + 9.074x_1 + 0.742x_2 + 6.849$	0.46	0.330

3 讨 论

近年来,许多研究表明,盐胁迫及重金属胁迫会显著影响植物的光合作用,且吴惠芳等<sup>[19]</sup>认为  $F_v/F_m$  下降幅度可以作为评价植物抗逆性的参考指标。研究发现,谷子光系统 II 和光系统 I 光化学量子产量在低钾胁迫下降低<sup>[20]</sup>;萝卜叶片光系统 II 的光化学淬灭系数( $qP$ )和电子传递速率(ETR)在 50  $\mu\text{mol/L}$  铀胁迫下显著降低<sup>[21]</sup>;燕麦的叶片净光合速率( $P_n$ )和  $qP$  在镉胁迫下下降最显著<sup>[22]</sup>;高磷浓度胁迫下,螺旋藻的  $F_v/F_m$  随着磷浓度增加呈现先升后降的趋势<sup>[23]</sup>;西瓜幼苗的光合作用在高浓度(180~240

mg/L)镉处理下受显著抑制<sup>[24]</sup>;菠菜叶片光合色素含量和  $P_n$  在低浓度(20 mg/L)铀处理下升高,其叶绿素荧光动力学参数在高浓度(50 mg/L 以上)铀处理下受到显著影响,其中的最大荧光( $F_m$ )、 $F_v/F_m$  和光系统 II 潜在活性( $F_v/F_o$ )均显著降低,而初始荧光( $F_o$ )显著升高,其原因可能是高浓度铀破坏了光系统 II 尤其是反应中心的结构和功能<sup>[25]</sup>。迄今,关于铀对藻类生长和光合作用影响的研究比较少。杨昊等<sup>[26]</sup>研究发现,当铀浓度为 30 mg/L 时,伊乐藻的光合作用受明显抑制,其  $F_v/F_m$  较对照组下降了 47.7%。唐东山等<sup>[27]</sup>报道,满江红鱼腥藻及爪哇伪枝藻的丙二醛含量在 30 mg/L 铀处理下显著增加,

抗氧化酶系统受到破坏,生长严重受阻。本试验结果表明,小球藻的生长和光合作用在低浓度铀(0.5 mg/L)处理下显著促进,在高浓度铀(5~20 mg/L)处理下受到显著抑制,表现为相对生长速率( $A_{680}$ )、光合放氧速率、 $F_v/F_m$ 、 $Y(II)$ 、rETR 等指标显著下降。尤其是黄龙小球藻,在 1 mg/L 低浓度铀处理下各项指标就表现出明显抑制效应,远远低于先前所报道的高等植物和其他藻类受到抑制的铀浓度,说明小球藻的光合作用对铀处理非常敏感。 $F_v/F_m$ 反映了光系统 II 的原初光能转换效率,其数值的下降表明微藻正受到光抑制,且光系统 II 反应中心受到破坏或可逆失活; $Y(II)$ 反映微藻用于光合电子传递的能量占所吸收光能的比例,在 5~20 mg/L 高浓度铀处理下,微藻的光系统 II 光能转化效率显著降低;rETR 的变化与光系统 II 电子传递能力有关,其值降低说明铀抑制了光系统 II 电子传递活性。以上这些结果表明,高浓度铀处理可能会导致微藻类囊体上的捕光天线、光系统 II 反应中心、放氧复合体、电子传递体等蛋白的结构域发生变化,从而破坏了光系统 II,进而抑制其功能<sup>[25,28]</sup>。以后,铀对藻类生长及光合作用的影响机理仍需要进一步探究。

目前,水体污染监测方法主要为物理化学方法和生物监测方法,物理化学检测方法虽有操作简单的优点,但其存在着监测不全面、不能体现污染物生物毒性的劣势。生物监测方法普遍耗时较长,但有着可用作长期多样化监测、低成本监测、可富集污染物、可评价污染物毒性等特点<sup>[29]</sup>。现有的基于指示生物、物种多样性变化以及常规生理生化指标变化的水体生物监测指标体系存在周期长,操作繁琐,灵敏性差等缺陷<sup>[11]</sup>,因此筛选超敏感的指示生物和生物标志物,建立新的操作简单、灵敏性高的监测指标体系是现代水体污染风险评价与生物监测技术的前沿发展方向。本试验采用不同浓度铀分别处理 2 种

来自不同生境的普通小球藻和黄龙小球藻,发现黄龙小球藻的相对生长速率、 $Y(II)$ 、rETR 等指标在 1 mg/L 低浓度铀处理下就可以做出快速灵敏的响应,敏感程度显著大于普通小球藻,更是显著大于已经报道的其他高等植物和藻类,其原因可能是黄龙小球藻生长在高海拔的黄龙地区,其生长条件对水质有着极高要求,相较于其他通过人工繁殖及其他自然环境下生长的藻种,其对水体污染的敏感性有着得天独厚的优势。因此黄龙小球藻具有成为评价水体铀污染风险的超敏感指示生物的潜力。另一方面,本研究表明不同浓度铀处理下,微藻的叶绿素荧光参数  $Y(II)$  和 rETR 对铀处理的敏感性大于相对生长速率、光合放氧速率、叶绿素含量等指标。因此,叶绿素荧光参数  $Y(II)$  和 rETR 可以作为对铀污染处理比较敏感的生物标志物。将黄龙小球藻与叶绿素荧光动力学技术结合起来应用于水体铀污染的风险评价与生物监测,可以建立一个新的生态风险评价与生物监测技术体系,具有广阔的应用前景。此外,叶绿素荧光动力学参数很多,在后续的工作中开展进一步系统研究也非常必要。

## 4 结 论

小球藻的生长和光合作用在低浓度铀处理下得到显著促进,而在高浓度铀处理下受到显著抑制。来自于生态脆弱地区的黄龙小球藻比普通小球藻对铀污染更敏感。不同浓度铀处理下,小球藻的光系统 II 实际光化学效率  $Y(II)$  和相对电子传递速率 rETR 的响应比相对生长速率、光合放氧速率、叶绿素含量等参数更敏感。将黄龙小球藻和叶绿素荧光动力学参数  $Y(II)$  和 rETR 结合起来应用于水体铀污染的生态风险评价,可以提高水体铀污染生物监测的灵敏度。

## 参考文献:

[1] 盛黎,周斌,孙明华,等. 日本福岛核事故对我国辐射环境影响的监测与分析[J]. 气象, 2013, 39(11): 1490-1499.  
SHENG L, ZHOU B, SUN M H, *et al.* Atmospheric radioactive fallout in China due to the Fukushima nuclear plant accident[J]. *Meteorological Monthly*, 2013, 39(11): 1490-1499.  
[2] LOZANO R L, HERNÁNDEZ-CEBALLOS M A, ADAME J A, *et al.* Radioactive impact of Fukushima accident on the

Iberian Peninsula: Evolution and plume previous pathway[J]. *Environment International*, 2011, 37(7): 1259-1264.  
[3] 唐峰华,张胜茂,吴祖立,等. 核素<sup>137</sup>Cs 在北太平洋典型生物体内的分布与富集[J]. 生态环境学报, 2016, 25(10): 1684-1692.  
TANG F H, ZHANG S M, WU Z L, *et al.* Enrichment and distribution of nuclide <sup>137</sup>Cs in typical organisms of North Pacific[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, 25



(10): 1684-1692.

[4] 刘弓冶, 倪士英, 黄仁杰, 等. 近岸海域环境放射性水平调查与监测探析[J]. 环境影响评价, 2017, 39(1): 32-34.

LIU G Y, NI S Y, HUANG R J, *et al.* Investigation and monitoring analysis of environmental radioactivity level in coastal waters[J]. *Environmental Impact Assessment*, 2017, 39(1): 32-34.

[5] 苏锴骏, 徐文清, 焦玲, 等. 日本福岛核废水排放入海的影响及建议措施[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2021, 45(5): 271-275.

SU K J, XU W Q, JIAO L, *et al.* The influence of nuclear waste water into the sea and suggested measures in Fukushima, Japan[J]. *International Journal of Radiation Medicine and Nuclear Medicine*, 2021, 45(5): 271-275.

[6] 陈立奇, 何建华, 林武辉, 等. 海洋核污染的应急监测与评估技术展望[J]. 中国工程科学, 2011, 13(10): 34-39.

CHEN L Q, HE J H, LIN W H, *et al.* Review on the marine radioactive-pollution monitoring and assessment technology [J]. *Strategic Study of CAE*, 2011, 13(10): 34-39.

[7] 齐文启, 陈光, 席俊清, 等. 放射性核素污染及监测[J]. 环境监测管理与技术, 2003, 15(4): 10-12.

QI W Q, CHEN G, XI J Q, *et al.* The pollution and monitoring of radioactive nuclides[J]. *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, 2003, 15(4): 10-12.

[8] HERLORY O, BONZOM J M, GILBIN R, *et al.* Use of diatom assemblages as biomonitor of the impact of treated uranium mining effluent discharge on a stream: Case study of the Ritord watershed (Center-West France) [J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22(8): 1186-1199.

[9] GOSSELIN M, BOUQUEGNEAU J M, LEFÈVRE F, *et al.* Trace metal concentrations in *Posidonia oceanica* of North Corsica (northwestern Mediterranean Sea): Use as a biological monitor? [J]. *BMC Ecology*, 2006, 6: 12.

[10] 姜彬慧, 林碧琴. 重金属对藻类的毒性作用研究进展[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2000, 27(3): 281-287.

JIANG B H, LIN B Q. Toxicological effects of heavy metals on algae[J]. *Journal of Liaoning University* (Natural Science Edition), 2000, 27(3): 281-287.

[11] 王丙莲, 杨艳, 张利群, 等. 水质监测中藻类植物的应用研究进展[J]. 山东科学, 2007, 20(1): 54-58.

WANG B L, YANG Y, ZHANG L Q, *et al.* The application study of algae for monitoring water quality[J]. *Shandong Science*, 2007, 20(1): 54-58.

[12] 胡丰姣, 黄鑫浩, 朱凡, 等. 叶绿素荧光动力学技术在胁迫环境下的研究进展[J]. 广西林业科学, 2017, 46(1): 102-106.

HU F J, HUANG X H, ZHU F, *et al.* Application of chlorophyll fluorescence analysis in environmental stress [J]. *Guangxi Forestry Science*, 2017, 46(1): 102-106.

[13] 陈莲花, 刘雷. 叶绿素荧光技术在藻类光合作用中的应用[J]. 江西科学, 2007, 25(6): 788-790.

CHEN L H, LIU L. Application of the chlorophyll fluorescence in photosynthesis of algae[J]. *Jiangxi Science*, 2007, 25(6): 788-790.

[14] 王梅梅, 熊亚南, 刘爱华, 等. 淡水藻类的分离纯化方法探索[J]. 环境科学导刊, 2013, 32(2): 118-121.

WANG M M, XIONG Y N, LIU A H, *et al.* Separation and purification of algae in the fresh water [J]. *Environmental Science Survey*, 2013, 32(2): 118-121.

[15] 沈萍萍, 王朝晖, 齐雨藻, 等. 光密度法测定微藻生物量[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2001, 22(3): 115-119.

SHEN P P, WANG Z H, QI Y Z, *et al.* An optical density method for determination of microalgal biomass[J]. *Journal of Jinan University* (Natural Science & Medicine Edition), 2001, 22(3): 115-119.

[16] 李永富, 孟范平, 李祥蕾, 等. 光照对光生物反应器中微藻高密度光自养培养的影响[J]. 中国生物工程杂志, 2013, 33(2): 103-110.

LI Y F, MENG F P, LI X L, *et al.* Effect of illumination on microalgae cultured at high cell density in photo-bioreactor [J]. *China Biotechnology*, 2013, 33(2): 103-110.

[17] 尤鑫, 龚吉蕊. 叶绿素荧光动力学参数的意义及实例辨析[J]. 西部林业科学, 2012, 41(5): 90-94.

YOU X, GONG J R. Significance and application of chlorophyll fluorescence dynamics process parameters[J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2012, 41(5): 90-94.

[18] 冯建灿, 胡秀丽, 毛训甲. 叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用[J]. 经济林研究, 2002, 20(4): 14-18.

FENG J C, HU X L, MAO X J. Application of chlorophyll fluorescence dynamics to plant physiology in adverse circumstance[J]. *Nonwood Forest Research*, 2002, 20(4): 14-18.

[19] 吴惠芳, 刘鹏, 龚春风, 等. Mn 胁迫对龙葵和小飞蓬生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(4): 653-658.

WU H F, LIU P, GONG C F, *et al.* Effects of manganese stress on growth, chlorophyll fluorescence parameters of *Solanum nigrum* L. and *Conyza canadensis* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(4): 653-658.

[20] 李艳芬, 郑君岗, 尹美强, 等. 低钾胁迫对谷子幼苗叶片光合作用的影响[J]. 西北植物学报, 2022, 42(6): 1012-1021.

LI Y F, ZHENG J G, YIN M Q, *et al.* Effect of low potassium stress on leaf photosynthesis of millet seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(6): 1012-

1021.

[21] 陈兴帮, 陈熹, 吴国, 等. 萝卜对铀及其伴生金属镉的富集特征与光合生理响应[J]. 西北植物学报, 2022, 42(3): 453-461.

CHEN X B, CHEN X, WU G, *et al.* Enrichment characteristics and photosynthesis physiological responses of *Raphanus sativus* to uranium and its associated metal cadmium[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42 ( 3 ): 453-461.

[22] 马凤仪, 赵宝平, 张茹, 等. 燕麦植株生长及叶片生理活性对土壤镉胁迫的响应[J]. 西北植物学报, 2022, 42(8): 1347-1354.

MA F Y, ZHAO B P, ZHANG R, *et al.* Response of oat plant growth and leaf physiological activity to soil cadmium stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(8): 1347-1354.

[23] 崔岩, 刘海燕, 李武阳, 等. 固定化培养中氮磷浓度对钝顶螺旋藻生长及其代谢产物和叶绿素荧光参数的影响[J]. 西北植物学报, 2023, 43(1): 136-146.

CUI Y, LIU H Y, LI W Y, *et al.* Effect of nitrogen and phosphorous concentrations on growth, metabolites and chlorophyll fluorescence parameters of immobilized *Spirulina platensis* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(1): 136-146.

[24] 张涵洋, 李爱, 张卫华, 等. 镉胁迫对西瓜幼苗生长及其叶片解剖结构和生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2023, 43(3): 401-409.

ZHANG H Y, LI A, ZHANG W H, *et al.* Effects of cadmium stress on the growth, leaf anatomical structure and physiological characteristics of *Citrullus lanatus* seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43 ( 3 ): 401-409.

[25] 徐国聪, 唐运来, 陈梅, 等. 铀对菠菜叶片光合作用影响的研究[J]. 西北植物学报, 2016, 36(2): 370-376.

XU G C, TANG Y L, CHEN M, *et al.* Effects of uranium on photosynthesis of spinach leaves[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, 36(2): 370-376.

[26] 杨昊, 罗学刚, 丁翰林, 等. 铀胁迫下伊乐藻的生理响应与富集特性研究[J]. 生物技术通报, 2019, 35(3): 39-46.

YANG H, LUO X G, DING H L, *et al.* Physiological response of *Elodea nuttallii* to uranium stress and its enrichment effect [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35 ( 3 ): 39-46.

[27] 唐东山, 张容芳, 周孙林, 等. 铀胁迫对 2 种蓝藻生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(6): 609-614.

TANG D S, ZHANG R F, ZHOU S L, *et al.* Effects of uranium stress on growth and activity of antioxidant enzymes of two cyanobacteria [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(6): 609-614.

[28] 曾峰, 唐永金. 铀胁迫对植物光合特性的影响及植物对铀的吸收转移[J]. 环境工程学报, 2014, 8(7): 3075-3082.

ZENG F, TANG Y J. Effects of uranium stress on plant photosynthetic characteristics and uptake and translocation of uranium in plants[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(7): 3075-3082.

[29] 刘伟成, 单乐州, 谢起浪, 等. 生物监测在水环境污染监测中的应用[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(5): 456-459.

LIU W C, SHAN L Z, XIE Q L, *et al.* Application of bio-monitoring in water pollution[J]. *Journal of Environment and Health*, 2008, 25(5): 456-459.