维普资讯 http://www.cqvip.com

第19卷1期
2004年2月

中国病毒学
VIROLOGICA SINICA

19（1）：58—61
February 2004

紫外光和日光对噬藻体PP活性的影响*

邱 彤[1]，徐 丽[1]，程 凯[1]，夏燕华[1]，赵以军[1**]，石正丽[2]

（1. 华中师范大学生命科学学院，湖北武汉 430079；2. 中国科学院武汉病毒研究所，湖北武汉 430071）

The Change in Activity of Cyanophage PP by UV and Sunlight Radiation

QIU Tong[1], XU Li[1], CHENG Kai[1], XIA Yan-hua[1], ZHAO Yi-jun[1**], SHI Zheng-li[2]

(1. School of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China; 2. Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

Abstract: The results of UV and sunlight on the activity of freshwater cyanophage PP are presented in this paper. Both UV-A and UV-B resulted in significant inactivity of cyanophage, though the effect was different. The outdoor performance showed that the day inactivity rates of cyanophage by sunlight in summer and winter were 88.60% and 58.86%, respectively. It was also found that in spite of the similar sunlight intensity at some time interval in two seasons, the inactivity rate was of a considerable diversity. Different sunlight constituent might be responsible for the diversity. The results were useful for explaining the seasonal change in cyanophage population in freshwater.

Key words: UV; Sunlight; Cyanophage PP; Inactivity rate

摘要：分别研究了实验室条件下紫外灯照射及不同季节中日光照射对噬藻体 PP 活性的影响。结果表明紫外光（UV-A 和 UV-B）对噬藻体 PP 有较强的致失活作用,并且其致失活作用强弱与波长有关。日光的作用下，夏季时噬藻体 PP 的日失活率为 88.60%，冬季时为 58.86%。同时发现不同季节中，尽管在某些时段的日光强度相似，但噬藻体 PP 失活率的差别却较大，这一现象可能是由于光质不同引起的。上述结果有助于解释淡水环境中噬藻体种群大小的季节性波动。

关键词：紫外光；日光；噬藻体 PP；失活率

中图分类号：Q939.48　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1003-5152(2004)01-0058-04

浮游藻类是自然水体中主要的初级生产者和固氮生物，其中蓝藻是浮游藻类的主要成员之一，且其固氮量占生物固氮总量的20%[1]，而噬藻体则是影响蓝藻种群变化的关键因素：海洋中裂解聚球藻的噬藻体对聚球藻具有强烈致死的效应[2]，可降低海洋一半的初级生产力[3]，控制海洋中有机碳的循环[4]。研究还发现噬藻体活性受诸多环境因子的控制：温度和营养程度可以通过作用于宿主而间接影响噬藻体的释放量，而天然菌群、热敏感性物质、胶体和有机颗粒物质（POM）则可以直接引起噬藻体的失活[5]。近年来，随着研究的不断深入，人们发现日光是影响表层海水中噬藻体活性的最重要因素[6]，并且已经证明日光中的紫外光是造成海洋中噬藻体失活的主要原因[7]。但是淡水噬藻体的失活是否也同海洋噬藻体一样主要受日光，特别是紫外光的影响，还没有见诸文献报道。这是一个值得探索的新问题。本文就普遍存在于我国淡水水体中的噬藻体—PP，研究和报道紫外光和日光对其活性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

噬藻体 PP 是本实验室从本地分离得到，可特异性感染鲍氏织线藻（*Plectonema boryanum* IU594）

收稿日期：2003-06-06，修回日期：2003-07-23
* 基金项目：中国科学院院长基金（院基计字892号）；国家自然科学基金（30370062）；武汉市科技攻关计划（20026002097）
作者简介：邱彤（1982-），女，湖北武汉籍，生物技术专业本科生。
** 通讯作者。Corresponding author. Tel: 027-67867915, E-mail: yjzhao@public.wh.hb.cn

维普资讯 http://www.cqvip.com

和坑形席藻(*Phormidium foveolarum* IU427)[8]。试验中使用的鲍氏织线藻 IU594 来自于中国科学院水生生物研究所藻种保藏中心，使用 AA 培养基对其进行培养[9]。用于遮挡噬藻体 PP 悬液的塑料薄膜为透明聚氯乙烯膜。

1.2 紫外光对噬藻体 PP 活性的影响

用不加盖的平皿（直径为 7.0cm）盛放已知效价的噬藻体 PP 悬液 5 mL，悬液高度 0.13cm，置于距紫外灯管（UV-A 365nm 15W，UV-B 310nm 15W）33cm 处，照射 1min、3 min、10 min、15 min、30 min 和 45 min 后分别取样 0.1 mL，采用双层平板法[8]测定在红光（650-750nm）[10]培养条件和白光（普通日光灯）培养条件下的噬藻体效价。每次取样后摇匀噬藻体悬液，然后继续接受照射。

1.3 冬夏季节日光对噬藻体 PP 活性的影响

在事先准备好的冰台上放 5 个分别装有 5mL 已知效价噬藻体 PP 悬液的平皿。冰台可保证在日光照射的过程中噬藻体不会因为温度升高而失活），用透明聚氯乙烯膜（紫外光对其的透过率已事先用 France VLX-3W 测定）遮盖平皿以防止污染。夏季试验分别在 8 月 19 日、21 日和 24 日 3d 进行，每天的试验均从上午 8：00 开始，经日光照射 3h、6 h、9 h 后从每皿取样 0.1 mL 混匀，白光培养，用双层平板法[8]测量其效价，取 3 次试验的平均值。冬季试验分别在 12 月 7 日和 10 日进行，由于日照条件的限制，试验从上午 8：30 开始，取样时间分别是日光照射 3h、6h、8h 后，其余步骤同于夏季。

试验同时，每隔 1h 用 JD-3 型照度计测定日光的光照强度。

2 结果与分析

2.1 紫外光对噬藻体 PP 活性的影响

实验结果表明，紫外光对噬藻体 PP 有较强的致失活作用，作用的强弱受培养条件和紫外光波段的影响（表 1）。红光培养条件下，UV-A 和 UV-B 分别在照射 30min 和 10min 后导致 90%以上的噬藻体 PP 失活，而白光培养条件达到相同效果 UV-A 和 UV-B 分别需要照射 45min 和 30min；白光培养条件下，紫外照射 1min，3min 和 10min 时，UV-A 对噬藻体 PP 的致失活能力大于 UV-B，而随着照射时间的延长，经 UV-B 照射引起的噬藻体 PP 失活率超过了 UV-A。并且，UV-B 在照射 30min 和 45min 两个时间段的平均致失活速率分别为 3.10% • min^{-1} 和 2.21% • min^{-1}，高于 UV-A 作用下的平均致失活速率（分别为 2.96% • min^{-1} 和 2.01% • min^{-1}）。

表 1 紫外光对噬藻体 PP 活性的影响

Table 1 The inactivity rate of cyanophage under UV radiation(%)

Radiation time	UV-A(365nm, 15w)		UV-B(310nm, 15w)	
(min)	RL	WL	RL	WL
1	71.35	35.05	68.86	22.60
3	86.15	40.60	79.01	35.16
10	87.18	57.34	94.23	45.20
15	89.01	69.94	94.81	73.50
30	94.45	88.88	98.38	93.11
45	>99.00	94.54	>99.00	99.34

RL: Illuminated by red lamp; WL: Illuminated by white lamp.

2.2 室外试验光强变化

室外试验光强度变化的测定结果见图 1。

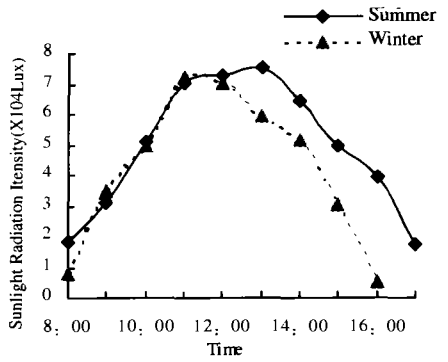

图 1 冬夏两季室外试验光强变化图

Fig.1 The changes of sunlight radiation intensity in summer and winter

夏季试验时的日平均气温是 35℃，微风；冬季试验时的日平均气温是 8℃，无风。由图 1 可见，在夏季，光照强度从 8：00 到 11：00 时快速增加，至 13：00 达到峰值，随后稳步下降. 其中光照强度在 70000Lux 以上的时间段为 11：00 到 13：00。冬季，光照强度的最高峰出现在 11：30，70000Lux 以上的照度出现在 11：30 到 12：30 之间。

在光照强度为 75800 Lux 时，测得的紫外光光强为 UV-A1.226mw/cm^2，UV-B0.242 mw/cm^2，遮盖薄膜后其值分别减小为 1.145 mw/cm^2，0.185 mw/cm^2。所以，由 UV 透过率=薄膜遮盖后紫外光光强/薄膜遮盖前紫外光光强×100%，即有 UV-A 透过率=1.145/1.226×100%=93.39%；UV-B 透过率=0.185/0.242×100%=76.64%

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.3 日光对噬藻体PP活性的影响

夏冬季日光对噬藻体PP活性影响的检测结果分别见表2和表3。

表2 夏季日光照射对噬藻体PP活性的影响

Table 2 The inactivity rate of cyanophage by the sunlight radiation in summer

Time of radiation (h)	Cyanophage titre (PFU/mL)	Inactivity rate of cyanophage (%)
0	3.49×10^8	—
3	1.59×10^8	54.44
6	7.75×10^7	77.79
9	3.98×10^7	88.60

由表2可见，夏季时日光引起的噬藻体PP的日失活率为88.60%，说明日光对其有很强的致失活能力。对比图1和表2还发现，尽管在测量的3个时段内光照强度的变化较大，但噬藻体PP的失活率却总是维持在每3h 50%左右，说明夏季时噬藻体PP的失活率随光照强度的变化较小。

表3 冬季日光照射对噬藻体PP活性的影响

Table 3 The inactivity rate of cyanophage by the sunlight radiation in winter

Time of radiation (h)	Cyanophage titre (PFU/mL)	Inactivity rate of cyanophage(%)
0	1.83×10^8	—
3	1.26×10^8	31.10
6	8.12×10^7	55.63
8	7.53×10^7	58.86

由表3可见，冬季时噬藻体PP的日失活率为58.86%。3个时段中前两个时间段有相近的失活率，其平均失活速率为11.11%/h，而在最后的两小时失活率仅为7.27%，平均失活速率为3.64%/h，是前两个时段的32.76%，显然与光强变弱有关。

比较表2和表3，还发现夏天日光引起的噬藻体PP的失活率明显高于冬季，冬季的噬藻体日失活率约为夏季的2/3。结合图1来看，在9：30到12：00这个时间段内，冬夏两季试验的日光光强的变化相当一致，而冬季此时段内的噬藻体PP失活率却明显小于夏季，这说明冬夏日光中随着光质的不同，会对噬藻体PP的失活率产生不同的影响。

3 讨论

通过对我国各种淡水水体中噬藻体的初步调查，我们发现噬藻体PP的分布较为广泛，而且含量丰富、裂解性强[11]。这与海水中裂解聚球藻的噬藻体的分布情况类似。因此推测噬藻体PP在淡水中应具有独特和重要的生态作用。

自然水体中病毒的失活是由物理、化学、生物等多种因素的相互作用造成的，情况是相当复杂的。在廿世纪80年代，人们已经发现可以造成病毒失活的物质包括天然细菌、热敏感性物质（酶）、胶体、有机颗粒物（POM）等[5]；而水中的颗粒物质则可以通过吸附病毒粒子，从而保护它们免受上述因子的破坏[12]。到廿世纪90年代，通过对几种海洋噬菌体、噬藻体和藻类病毒的研究，人们逐渐认识到以前被忽视的光照才是控制表层水中病毒活性的主要因素[6]。Noble等人比较了若干种理化因子对病毒失活的效力，发现由光照引起的病毒失活占总失活的25%～67%，而由热敏感性物质引起的病毒失活仅占20%[13]。Suttle等人综合了五种海生噬菌体的失活率受光照影响的数据，发现在清洁的海水中光照对病毒失活率的影响可以深达200米，既使是在较浑浊的河口和近岸水域，光照的影响也可以达到2.5米[14]。而且在光强减少80%的情况下，病毒的失活率仍然显著高于放在黑暗处的样品。本试验中选用的噬藻体PP在非光照条件下效价很稳定，4℃保存半年或是40℃处理10min都未发生失活[15]，因此本次试验中噬藻体的失活主要是光照（紫外光）引起的。近年来，人们还发现噬藻体种群结构的季节性变化实际上也很有可能与光照相关[16]。Garza等人对海水中噬藻体受日光中紫外光影响的周年研究表明，夏季时噬藻体的失活率最大[17]，本次试验的结果与此是吻合的。而影响日光对噬藻体致失活率的因素，除了光照强度、水的浊度和扰动情况外[5]，还包括日光的成份（主要是紫外光）。有证据表明，不同波段的紫外光对噬藻体的灭活效率是不同的，Suttle等认为波长小于320nm的紫外光（UV-B）对裂解聚球藻的噬藻体的影响最大，其所引起的失活占总失活率的2/3以上[18]。而最近的研究却表明波长在320nm～400nm的紫外光（UV-A）对噬菌体的影响更大[17]。我们在实验中发现，在紫外光照射的短时间内UV-A的致失活作用比较明显，但随着照射时间的延长，UV-B引起噬藻体PP失活率超过了UV-A，并且此差距有随着照射时间的延长而扩大的趋势。有证据表明，日光中UV-A、UV-B的强度会发生季节性的变化，甚至紫外光的构成也会发生改变[19]。本试

维普资讯 http://www.cqvip.com

验也发现当冬夏两季光照强度相似时，噬藻体的失活率却表现出较大的差别，这很可能就是由于日光中紫外光的强度和成分的不同造成的。

尽管对紫外光较为敏感，但噬菌体在表层水中的浓度仍然可以高达 10^4/mL～10^5/mL 个[3]。Suttle 等人指出，这一矛盾主要体现在以光合自养生物为宿主的噬藻体和藻类病毒上[20]，其原因很可能是宿主或病毒通过自身介导的 DNA 修复机制抵消了光照对病毒的失活效力。不但如此，人们还发现病毒活性的恢复和水体的环境因素是有关系的。如有研究表明，在远洋的贫营养海水样品中，光修复率只能达到 25%，而在近岸的富营养化的水体中则高达 50%[7]。我们在用 PFU 法测定效价时观察到经紫外光和日光处理的噬藻体的成斑时间要明显长于未经处理的噬藻体，这种延迟很可能就是由于依赖宿主的修复作用造成的[21]。同时，琥珀光和白光培养条件下噬藻体失活率的差异也证明了光修复的存在。

需要指出的是，尽管在户外试验中我们获得了日光对噬藻体致失活率的初步数据，但由于使用的聚氯乙烯膜对紫外光具有一定的遮挡作用，而且在试验中发生了光修复作用，因此测得的噬藻体失活率比实际结果偏小，进一步的试验将详细研究自然条件下噬藻体的紫外损伤和修复的水平与机制。

参考文献

[1] 张宪孔，戴铃芬，戴和平，等. 蓝藻的固氮及其生物学意义[A]. 中国藻类学研究[C]. 武汉：武汉出版社，2001，212-222.

[2] Proctor L M, Fuhrman J A. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria[J]. Nature, 1990, 343: 60-62.

[3] Suttle C A. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity[J]. Nature, 1990, 347: 467-469.

[4] Fuhrman J A. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects[J]. Nature, 1999, 399: 541-548.

[5] Wommack K E, Rita R C. Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64: 1092-2172.

[6] Wilhelm S W, Weinbauer M G, Suttle C A, *et al*. The role of sunlight in the removal and repair of viruses in the sea[J]. Limnol. Oceanogr, 1998, 43: 586-592.

[7] Weinbauer M G, Wilhelms S W, Suttle CA, *et al*. Photoreactivation compensates for UV damage and restores infectivity to natural marine virus communities[J]. Appl. Environ. Microbiol, 1997, 63:2200-2205.

[8] 赵以军，程 凯，石正丽，等. 我国首株噬藻体（蓝藻噬藻体）的分离与鉴定[J]. 自然科学进展，2002，12:923-927

[9] Carr N G, Xu L, Cheng K, *et al*. Notes on isolation and laboratory culture[A]. In: The Biology of Blue-Green Algae[C]. Berkeley: Blackwell Scientific Publications, 1973, 525-531.

[10] Weinbauer M G, Wilhelm S W, Suttle, CA *et al*.Photoreactivation compensates for UV damage and restores infectivity to natural marine virus communities[J]. App. Environ. microbia, 1997, 63: 2200-2205

[11] 郭亚新，程 凯，赵以军，等. 淡水噬藻体及其他溶藻因子的分布与感染力[J].中国环境科学，2003，2: 167-170.

[12] Bitton, G. Adsorption of viruses onto surfaces in soil and water[J]. Water Res, 1975, 9:473-484.

[13] Noble R T, Fuhrman J A. Virus inactivity and its causes in coastal waters[J]. Appl environ microbiol, 1997, 63:77-83.

[14] Cottrell M T, Suttle C A. Dynamics of a lytic virus infecting the photosynthetic marine picoflagellate Micromonas pusilla[J]. Limnol Oceanogr, 1995. 40:730-739.

[15] 程 凯，王春艳，郭亚新，等，感染丝状蓝藻的噬藻体的裂解周期和释放量的测定[J]，中国病毒学，2002，17: 374-376.

[16] Suttle C A. Cyanophages and their role in the ecology of cyanobacteria[A]. In: The ecology of cyanobacteria[C]. Netherlands Dordrecht: Kluwer academic publishers, 2000. 563-589.

[17] Garza D R, Suttle C A. The effect of cyanophages on the mortality of Synechococcus spp and selection for UV resistant viral communities[J].Microbiol Ecol, 1998,36:281-292.

[18] Suttle C A, Chen F. Mechanisms and rates of inactivity of marine viruses in seawater[J]. Appl Environ microbiol, 1992, 58:3721-3729.

[19] 李长立. 天津地区日光紫外线辐射强度观察[J] .临床皮肤科杂志，1999，2: 29-30.

[20] Suttle C A, Chan A N, Chen F, *et al*. Cyanophages and sunlight: a paradox[A]. In: Trends in microbial ecology[C]. Barcelona: Spanish Society for Microbiology, 1993, 303-307.

[21] Lee H L, Cohn G, Cosowsky L, *et al*. DNA metabolism during infection of Anacystis nidulans by cyanophage AS-1:UV-induced alterations of the AS-1/A. nidulans lytic cycle[J].Microbios.1985, 43:277-295.