

Wirkung von UV-B-Strahlung auf den Stickstoffmetabolismus von marinem Phytoplankton

Günter Döhler

Das in der Antarktis seit einiger Zeit beobachtete „Ozonloch“ hat die Diskussion über die Ursache und die Folgen des Ozonabbaues erneut aufkommen lassen. Danach wird das Ozon vor allem durch Fluorchlorkohlenwasserstoffe abgebaut. Nach den Modellberechnungen der Meteorologen soll die Ozonminderung ca. 5 % betragen. Die Folge davon ist eine Erhöhung des auf die Erdoberfläche treffenden UV-Anteils der Sonnenstrahlung und eine Verschiebung zum kürzerwelligen Bereich. Nach den bisher vorliegenden Beobachtungen kann dieses zu deutlichen irreversiblen Schäden der biologischen Systeme führen. Der Ozonabbau wirkt sich besonders negativ auf die Organismen des Meeres aus, das das größte Ökosystem der Erde darstellt. Von besonderer Bedeutung ist hierbei das marine Phytoplankton, das eine wichtige Rolle als Sauerstoff- und Primärproduzent spielt (32 % der gesamten Weltproduktion). Der Hauptanteil der Primärproduktion (60-80 %) geht auf *Diatomeen* zurück und die übrige Biomasse wird von den *Pyrrhophyceen* und *Coccolithophoriden* produziert. In zahlreichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Primärproduktion des marinen Phytoplanktons durch den UV-Anteil der Sonnenstrahlung insbesondere nahe der Wasseroberfläche stark reduziert wird (STEEMANN NIELSEN, E., 1964; SMITH, R.C. et al., 1980; WORREST, R.C., 1982). Eine Erhöhung der UV-B-Strahlung dürfte zu einer Reduktion der Biomasseproduktion führen und wird negative Auswirkungen auf die Primärkonsumenten in der Nahrungskette haben. Die Mikroorganismen, vor allem die Meeresdiatomeen, erwiesen sich als besonders empfindlich gegenüber UV-B-Streß (DÖHLER, G., 1982, 1984a). Die beobachtete artspezifische Sensibilität von Mikroorganismen wirkt sich auf die Artenzusammensetzung des Ökosystems aus (CALKINS, J. und THORDARDOTTIR, T., 1980; WORREST, R.C. et al., 1978). So wurde beobachtet, daß die Sonnenstrahlung eines normalen Sonnentages für viele Diatomeenarten letal war und die Zahl der filamentösen *Cyanobakterien* zunahm. Über die Auswirkungen der Veränderungen in der Phytoplanktongemeinschaft können derzeit noch keine detaillierteren Aussagen gemacht werden. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen führt eine Erhöhung der UV-B-Strahlung zu einer Reduktion der Zellinhaltsstoffe und Beeinträchtigung der Stoffwechselprozesse, was sich wiederum auf das Ökosystem auswirken kann (DÖHLER, G., 1984a, 1985; HALLDAL, P., 1979; WORREST, R.C., 1982). In dem vorliegenden Artikel wird die Wirkung der UV-B-Strahlung auf Wachstum, Zellinhaltsstoffe und die Aufnahme sowie Metabolisierung anorganischer Stickstoffverbindungen bei marinen Diatomeen und Phytoplankton beschrieben.

1. Untersuchungsmethoden

Als Versuchsobjekte fanden mehrere Diatomeenarten Verwendung: *Ditylum brightwellii* (West) Grunow, *Lauderia annulata* Cleve, *Lithodesmium variabile* Takano und *Thalassiosira rotula* Meunier. Die Anzuchtbedingungen für die Massenkultur waren: Nährlösung nach v. STOSCH, H.A. und DREBES, G. (1964), Begasung mit normaler atmosphärischer Luft (0,035 Vol. % CO₂), Temperatur +18°C und ein Licht/Dunkel-Wechsel von 12:12 bzw. 16:8 Stunden (Weißlichtintensität 1 mW cm⁻²). Für die Synchronisation von *Ditylum brightwellii* war ein Licht/Dunkel-Wechsel von 6,5:17,5 Stunden notwendig.

Die natürlichen Planktonproben sind vor Helgoland entnommen und in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen in verschiedenen Wassertiefen wieder exponiert worden. Der Hauptteil der autotrophen Zellen bestand aus *Phaeocystis pouchettii* sowie *Rhizosolenia setigera*, *Chaetoceros spec.*, *Ceratium fusus* und *Dinophysis acuminata*.

Zur Bestrahlung der Algenreinkulturen wurden UV-Röhren der Fa. Philips (TL 40/12 und TL 20/12) und cut-off-Filter (WG 305 der Fa. Schott u. Gen., Mainz; Dicke 3 mm) benutzt. Für die Bestrahlungsexperimente befanden sich die Algen in einer speziellen Quarz-Kulturröhre bzw. UV-durchlässigen Assimilationskammer. Die Lichtintensität wurde mit einem Meßgerät der Fa. International Light bzw. Optronic Lab. Inc., USA gemessen und die Werte nach der Wichtungsfunktion von CALDWELL, M. (1971) berechnet.

Die Bestimmung des Proteingehaltes erfolgte nach der Methode von BRADFORD, M.M. (1976) und die von Chlorophyll a + c nach JEFFREY, S.W. und HUMPHREY, G.F. (1975). Die Extraktion, Trennung und Identifizierung der Lipide sind nach der bei DATZ, G. (Dissertation 1981) beschriebenen Prozedur ausgeführt worden.

Den Phytoplanktonproben und den während der exponentiellen Wachstumsphase geernteten Diatomeenarten wurden ¹⁵N-Ammonium (96 Atom%) und ¹⁵N-Nitrat (96,8 Atom%) appliziert und nach verschiedenen Photosynthesepersonen Proben entnommen. Für die Bestimmung der Aufnahmezeiten sind die Algen auf Whatman-Filter (GF/C) gesaugt und zur Erfassung des ¹⁵N-Einbaues in die Aminosäuren bzw. Proteine in 80%igem Ethanol extrahiert worden. Die Probenaufbereitung erfolgte nach der DUMAS-METHODE und die ¹⁵N-Messung mit einem Emissionsspektrometer (Statron NOI 5, Zeiss, Jena). Nähere Einzelheiten der Versuchsanordnung und ¹⁵N-Analyse wurden bei DÖHLER, G. und ROSSLENBROICH, H.-J. (1981) ausführlich dargestellt. Zur elektrophoreti-

schen Auftrennung der TCA-fällbaren Proteine mittels SDS-DISK-PAGE in einem linearen Porengradienten fand eine Elektrophoreseapparatur der Fa. LKB (Modell Multiphor II Elektrophoresis Unit) Verwendung (Methode nach FEHRNSTRÖM, H. und MOBERG, U., 1977). Die Aktivitäten der Aspartat- (E.C.2.6.1.1) und Alaninaminotransferase (E.C.2.6.1.2) sind nach HATCH, M.D. und MAU, S.-H. (1973) und die der Glutaminsynthetase (E.C.6.3.1.2) und Glutamatsynthase (E.C.1.4.1.14) nach SHAPIRO, B.M. und STADTMAN, E.R. (1970) bzw. GROAT, R.G. und VANCE, C.P. (1981) im optischen Test bestimmt worden.

2. UV-B-Wirkung auf Wachstum und Artenzusammensetzung

Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurde eine artspezifische Empfindlichkeit von Planktonalgen gegenüber UV-B-Streß gefunden (DÖHLER, G., 1984a+b; WORREST, R.C., 1982). Erste Beobachtungen liegen von GESSNER, F. und DIEHL, A. (1951) an limnischen Planktonalgen vor. Entsprechend der UV-Dosis nahm der Anteil an autotrophen Organismen ab; das Artengefüge des Phytoplanktons wurde infolge einer unterschiedlichen Beeinträchtigung des Wachstums der einzelnen Arten verändert (WORREST, R.C. et al., 1978). CALKINS, J. und THORDARDOTTIR, T. (1980) fanden bei mehreren Diatomeen aus dem Nordatlantik ebenfalls eine artspezifische Sensibilität gegenüber dem UV-Anteil der Sonnenstrahlung. Die Lichtverhältnisse nahe der Wasseroberfläche führten an einem normalen Sommertag für viele Arten des Phytoplanktons zu starken Schäden und letztlich zum Zelltod. Die UV-Strahlung stellt offensichtlich einen wichtigen Selektionsfaktor im marinen Ökosystem dar und beeinflusst die Artenzusammensetzung der natürlichen Phytoplanktonpopulationen. Bei kurzzeitigen Diatomeenarten verursachte UV-B-Strahlung eine starke Hemmung der Wachstumsrate (THOMSON, B.E. et al., 1980). Die Änderung in der Artenzusammensetzung des Phytoplanktons durch UV-Bestrahlung kann zu einer Reduktion der für die Primärkonsumenten gut verwertbaren Phytoplanktonalgen führen und somit die anderen Organismen der Nahrungskette stark beeinträchtigen.

Eine aus mehreren Diatomeenarten bestehende Algengemeinschaft zeigte starke Veränderungen in den Wachstumsraten der einzelnen Arten nach hohen UV-Intensitäten des Sonnenlichts ($990 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Die Diatomee *Thalassiosira rotula* war deutlich UV-B-empfindlicher als *Ditylum brightwellii* und *Lithodesmium variable*; während das Wachstum von *Thalassiosira* stark gehemmt war, wurde das

von *Lithodesmium* deutlich gefördert (DÖHLER, G. und KRAUSE, K.-D., 1989). Neben dem art-spezifischen Verhalten ist außerdem eine stadienspezifische Reaktion gegenüber UV-B-Streß bei Synchronkulturen von *Ditylum brightwellii* beobachtet worden. Eine Dosis von $780 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ verhinderte die Teilung aller Zellen. Die Abb. 1 zeigt, daß diese Dosis nur für einen Teil der *Ditylum*-zellen letal ist und nach einer Erholungsphase von zwei Zyklen eine erneute Zellteilung auftritt. Die Synchronität der Algen konnte nach UV-B-Bestrahlung mit nur $280 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ nicht wieder erreicht werden, was die hohe Sensibilität dieser Planktonalge dokumentiert.

3. Einfluß der UV-B-Strahlung auf Zellinhaltsstoffe (Pigmentierung, Protein- und Lipidgehalt)

Die destruktive Wirkung von UV auf Nucleinsäuren, Proteine und Pigmente ist seit einiger Zeit bekannt (HALLDAL, P., 1979; WORREST, R.C., 1982). Bei Reinkulturen von zwölf Meeresdiatomeen wurde eine Abnahme des Pigment- und Proteingehaltes schon nach relativ niedrigen UV-B-Dosen ($439 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) gefunden, die weit unter denen eines normalen Sonntages liegen (DÖHLER, G., 1984a). Die Daten der Tab. 1 zeigen deutliche Unterschiede in der Auswirkung der UV-B-Bestrahlung auf den Pigment- und Proteingehalt von Mikroalgen je nach taxonomischer Gruppe. Die eukaryontischen Algen waren wesentlich empfindlicher als die Cyanobakterien. Besonders auffällig ist die starke Verminderung des Phycocyanin-gehaltes nach UV-B-Bestrahlung, was mit der exponierten Anordnung der Phycobilisomen auf den Thylakoidmembranen erklärt werden kann. Eine besonders drastische Reduktion der Zellinhaltsstoffe wurde bei den Meeresdiatomeen schon bei niedriger UV-B-Dosis gefunden. Zusätzliche Streßfaktoren (Temperatur, Salzkonzentration) verursachen weitere Schäden (DÖHLER, 1984b). So weisen Meeresdiatomeen, die bei einer Salzkonzentration von 35 ‰ wachsen, bei einer Salinität von 20 ‰ deutlich höhere Schäden nach UV-B-Streß in der Pigmentierung und im Proteingehalt auf als bei 45 ‰.

Bei Synchronkulturen von *Ditylum brightwellii* ist der Einfluß von UV-B auf die Synthese der Acyllipide untersucht worden (vgl. Abb. 2). Die Algen sind zu Beginn der Lichtphase und mit unterschiedlicher Intensität bestrahlt worden. Die Synthese von Digalactosyldiacylglycerin (DGDG) reagierte am empfindlichsten auf UV-B-Streß. Von den anderen Lipiden waren Monogalactosyldiacylglycerin (MGDG) und Phosphatidylglycerin (PG) ebenfalls in ihrer Synthese deutlich beeinträchtigt. Dagegen wurde die Lecithinsynthese (PC) nur um ca. 20 %

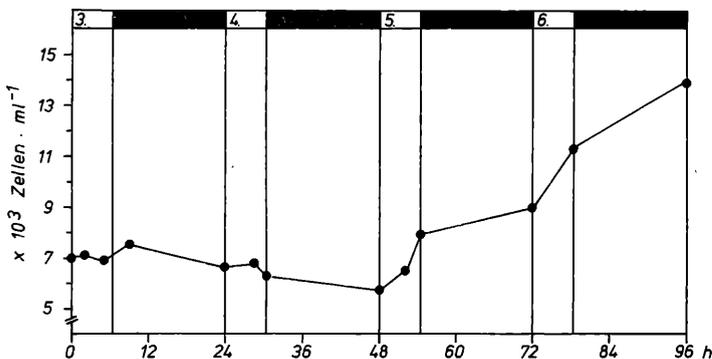


Abbildung 1

Änderung der Zellzahl von *Ditylum brightwellii* nach UV-B-Bestrahlung.

Mit Lichtbeginn (0.-2. h) wurde die *Ditylum*-Kultur einer UV-B-Dosis von $780 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ im 3. Zellzyklus ausgesetzt. In den folgenden drei Zyklen wurde die Zellzahl bestimmt (nach DÖHLER, G. und BIERMANN, T. 1989).

Tabelle 1

Einfluß von UV-B-Bestrahlung (1230 und 717 J m⁻²d⁻¹) auf den Chlorophyll a-, Phycocyanin-, Carotinoid- und Proteingehalt verschiedener Cyanobakterien und eukaryontischer Algen. Die Werte sind in µg ml⁻¹ und die Reduktion in % angegeben.

	Chlorophyll a		Phycocyanin		Carotinoide		Protein		
	Kontrolle 1230	%							
<i>Synechococcus leopoliensis</i>	25	20	111	39	22	22	261	245	6
<i>Anabaena cylindrica</i>	37	27	22	11	19	17	50	45	10
<i>Porphyridium purpureum</i>	11	9	14	10	7	6	257	175	32
<i>Chlorella fusca</i>	55	24	-	-	22	13	465	176	62
	Kontrolle 717	%			Kontrolle 717	%	Kontrolle 717		%
<i>Ditylum brightwellii</i>	7	3	-	-	7	4	103	31	70
<i>Thalassiosira rotula</i>	7	4	-	-	7	3	58	40	31

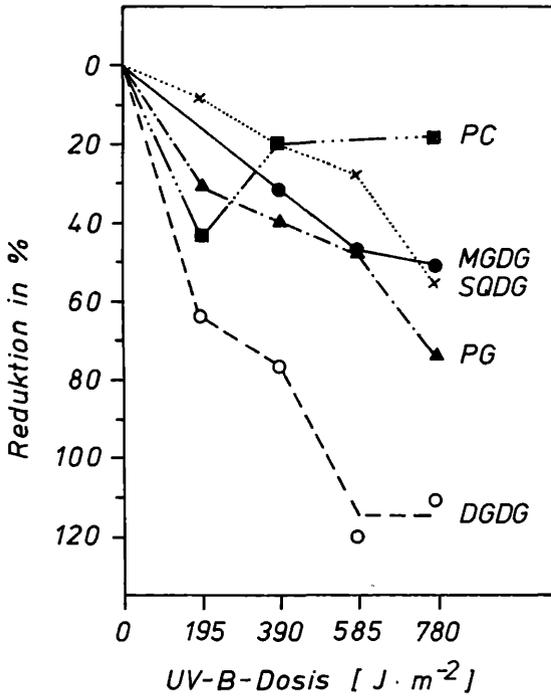


Abbildung 2

Reduktion der Lipidsynthese von *Ditylum brightwellii* in Abhängigkeit von der UV-B-Dosis.

DGDG Digalactosyldiacylglycerin, MGDG Monogalactosyldiacylglycerin, PC Phosphatidylcholin, PG Phosphatidylglycerin, SQDG Sulfoquinovosyldiacylglycerin (nach DÖHLER, G. und BIERMANN, T. 1989).

gehemmt. Da die UV-B-Dosis von $780 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ die DNS- und RNS-Synthese reversibel hemmten, wurde diese Intensität für die weiteren Experimente mit Synchronkulturen ausgewählt. Zu verschiedenen Zeiten der Lichtperiode eingestrahles UV-B bewirkte eine unterschiedliche Reduktion der einzelnen Lipide. Keinen Einfluß hatte während der Dunkelphase appliziertes UV-B auf die Acyllipidsynthese. Nach den vorliegenden Befunden wird kein Abbau der getesteten Lipide bei dieser UV-B-Dosis ($780 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) induziert (DÖHLER, G. und BIERMANN, TH., 1989).

4. Wirkung der UV-B-Bestrahlung auf die Aufnahme von ¹⁵N-Ammonium, ¹⁵N-Nitrat und ¹⁵N-Harnstoff

Seit den Untersuchungen von WARBURG, O. und NEGELEIN, E. (1920) sind zahlreiche Arbeiten über die Aufnahme und Assimilation anorganischer und organischer Stickstoffverbindungen veröffentlicht worden (LEA, P.J. und MIFLIN, B.J., 1979; SYRETT, P.J., 1981; ULLRICH, W.R., 1983). Nach Beobachtungen von COLLOS, Y. und SLAWYK, G. (1979) wird bei Phytoplanktonarten bevorzugt Nitrat aufgenommen. Der Transport in das Zellinnere erfolgt unter Beteiligung von Permeasen. Nach WHEELER, P. (1983) kommen als Transportmechanismen 1. ein ATP-verbrauchender, aktiver primärer Transport und 2. ein aktiver sekundärer Transport aufgrund eines Ionengefälles in Betracht, letzteres vor allem für NH_4^+ . DUGDALE, R.C. und GOERING, J.J. (1967) haben die ¹⁵N-Tracertechnik für die Untersuchung der Aufnahme von ¹⁵N-markiertem Ammonium und Nitrat bei Phytoplankton eingeführt. Neuerdings wird diese Methode von verschiedenen Arbeitsgruppen mit Erfolg angewandt.

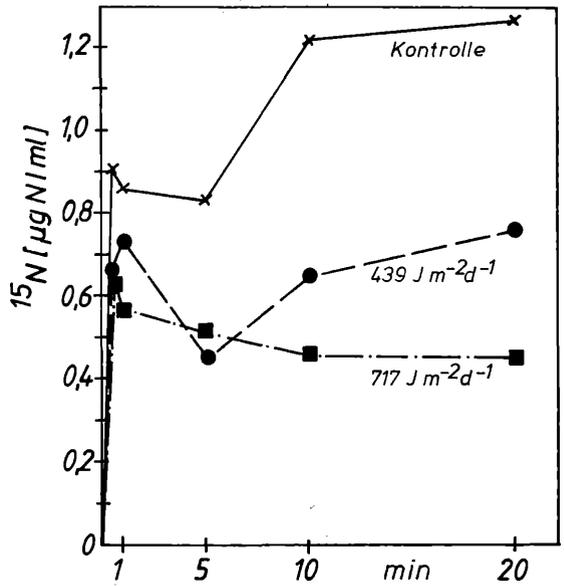


Abbildung 3

Kinetik der ¹⁵NO₃⁻-Aufnahme von *Ditylum brightwellii* nach UV-B-Bestrahlung.

Die Nitrataufnahme ist in $^{15}\text{N} \mu\text{g N l}^{-1} \text{ ml}^{-1}$ angegeben. In Parallelansätzen sind die Algen mit 439 bzw. $717 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ in den vorausgegangenen zwei Tagen bestrahlt worden.

Die Aufnahmeraten der anorganischen N-Verbindungen wird durch UV-B-Bestrahlung beeinflusst. Bei allen getesteten Cyanobakterien und Mikroalgen konnte eine Dosis-Wirkungsbeziehung festgestellt werden (DÖHLER, G. und STOLTER, H., 1986; DÖHLER, G. et al., 1986). Die Aufnahme von $^{15}\text{NH}_4^+$ wurde stärker durch UV-B-Bestrahlung beeinträchtigt als die von $^{15}\text{NO}_3^-$. Außerdem konnte ein artspezifisches Verhalten bei den verschiedenen taxonomischen Gruppen sowie innerhalb der marinen Diatomeen beobachtet werden (DÖHLER, G. und STOLTER, H., 1986). Die Abb. 3 zeigt repräsentativ für die anderen Algenarten die Wirkung der UV-B-Strahlung auf die Nitrataufnahme von *Ditylum brightwellii*. Mit zunehmender UV-B-Intensität nimmt die Aufnahmerate ab; bei anderen Arten wurde nach einer Reduktion eine Steigerung derselben beobachtet, was offensichtlich auf strukturellen Veränderungen in der Zellmembran zurückzuführen ist. Die bisher vorliegenden Daten deuten auf eine Hemmung des Aufnahmesystems durch UV-B hin, was einerseits auf einer direkten Beeinträchtigung und andererseits auf einer Verminderung der ATP-Versorgung beruhen kann.

In einer anderen Serie von Experimenten wurde der zeitliche Verlauf der ¹⁵N-Ammonium-Aufnahme von *Lithodesmium variabile* bei Einstrahlung verschiedener Wellenlängenbereiche untersucht (Abb. 4). Danach wird bei Bestrahlung im kurzwelligen Bereich (WG 280) die niedrigste Aufnahmerate gefunden. Der ¹⁵N-Einbau in mehrere freie Aminosäuren ergab – unabhängig vom Wellenlängenbereich – eine höhere Einbauraten in Glutamin als in Glutaminsäure (DÖHLER, G. et al., 1987). Aufgrund dieser und anderer Befunde kann Glutamin eine regulatorische Funktion in der Aufnahme anorganischer Stickstoffverbindungen haben. Die UV-B-Bestrahlung (290-320 nm) führt bei gleichzeitiger Bestrahlung mit monochromatischem Licht zu unterschiedlichen Reaktionen im Stickstoffmetabolismus von *Thalassiosira rotula* (Abb.

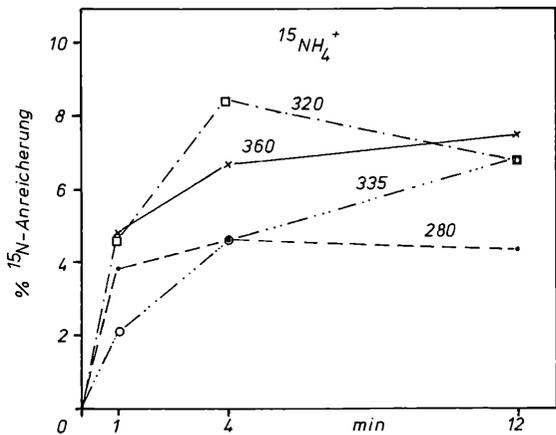


Abbildung 4

Einfluß verschiedener Wellenlängenbereiche auf die Kinetik der $^{15}\text{NH}_4^+$ -Aufnahme von *Lithodesmium variabile*.

Die verschiedenen UV-Bestrahlungen wurden mit cut-off-Filtern (Schott WG 280, 320 und 335) mit der gleichen Charakteristik im sichtbaren Bereich des Spektrums erreicht. Die ungewichteten UV-Intensitäten waren: $3,81 \text{ W m}^{-2}$ mit WG 280, $2,02 \text{ W m}^{-2}$ mit WG 320 und $0,75 \text{ W m}^{-2}$ mit WG 335. Die Algen wurden zusätzlich mit Weißlicht (8 W m^{-2}) bestrahlt (nach DÖHLER, G., WORREST, R. C., BIERMANN, I. und ZINK, J. 1987).

5). So wird die Aufnahme von Ammonium und Nitrat bei Bestrahlung mit 454, 604 und 670 nm durch UV-B signifikant vermindert. Demgegenüber bewirkt UV-B-Bestrahlung im grünen (544 nm) und orangeroten (624 nm) Bereich eine Steigerung der Aufnahmeraten. Da in den verschiedenen Tiefen der Wassersäule unterschiedliche Lichtverhältnisse vorkommen, kann diese Kombination d.h. UV-B und verschiedene Wellenlängenbereiche des sichtbaren Lichts einen schädigenden Einfluß auf die Stoffwechselprozesse der Phytoplanktonarten ausüben.

Da Harnstoff ebenfalls als Stickstoffquelle für das marine Phytoplankton von Bedeutung ist, wurde der UV-B-Einfluß auf die Aufnahme dieser Substanz bei *Ditylum brightwellii* bearbeitet. Entsprechend der eingestrahnten UV-B-Dosis ($306, 606 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) nimmt die Harnstoffaufnahme bis zu 40 % ab; der ^{15}N -Einbau in Glutaminsäure war deutlich niedriger als der in Glutamin. Diese Befunde stimmen im wesentlichen mit denen der Assimilation von Ammonium und Nitrat überein.

In mehreren Versuchsreihen wurde der Einfluß des UV-Anteils der Sonnenstrahlung auf die Aufnahme von ^{15}N -Ammonium und ^{15}N -Nitrat eines Diatomeengemisches, bestehend aus *Ditylum brightwellii*, *Lithodesmium variabile*, *Odontella sinensis* und

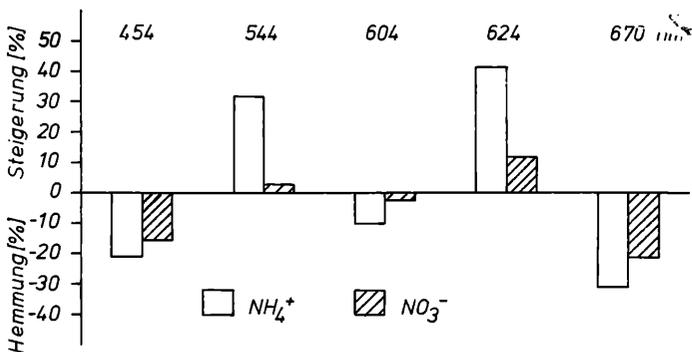


Abbildung 5

Einfluß von UV-B ($800 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) auf die ^{15}N -Ammonium und ^{15}N -Nitrat Aufnahme von *Thalassiosira rotula* nach 10 min. Bestrahlung mit monochromatischem Licht (436 mW m^{-2}).

Die Werte sind in % bezogen auf die nicht mit UV-B-behandelten Zellen (=0) angegeben.

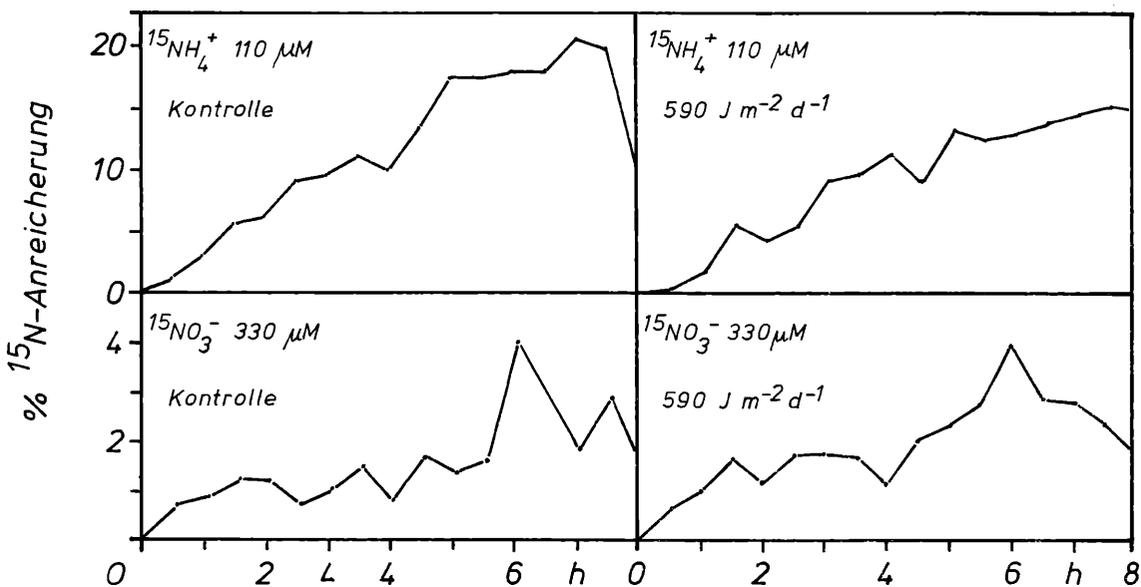


Abbildung 6

Wirkung des UV-Anteils der Sonnenstrahlung auf die Aufnahme von $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (96 Atom%) und K^{15}NO_3 (96,5 Atom%) einer Algengemeinschaft.

Die Diatomeen *Ditylum brightwellii*, *Lithodesmium variabile*, *Odontella sinensis* und *Thalassiosira rotula* sind in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen zwei Tage der natürlichen Sonnenstrahlung ausgesetzt worden. Am zweiten Tag wurde die Aufnahme der anorganischen Stickstoffverbindungen ermittelt.

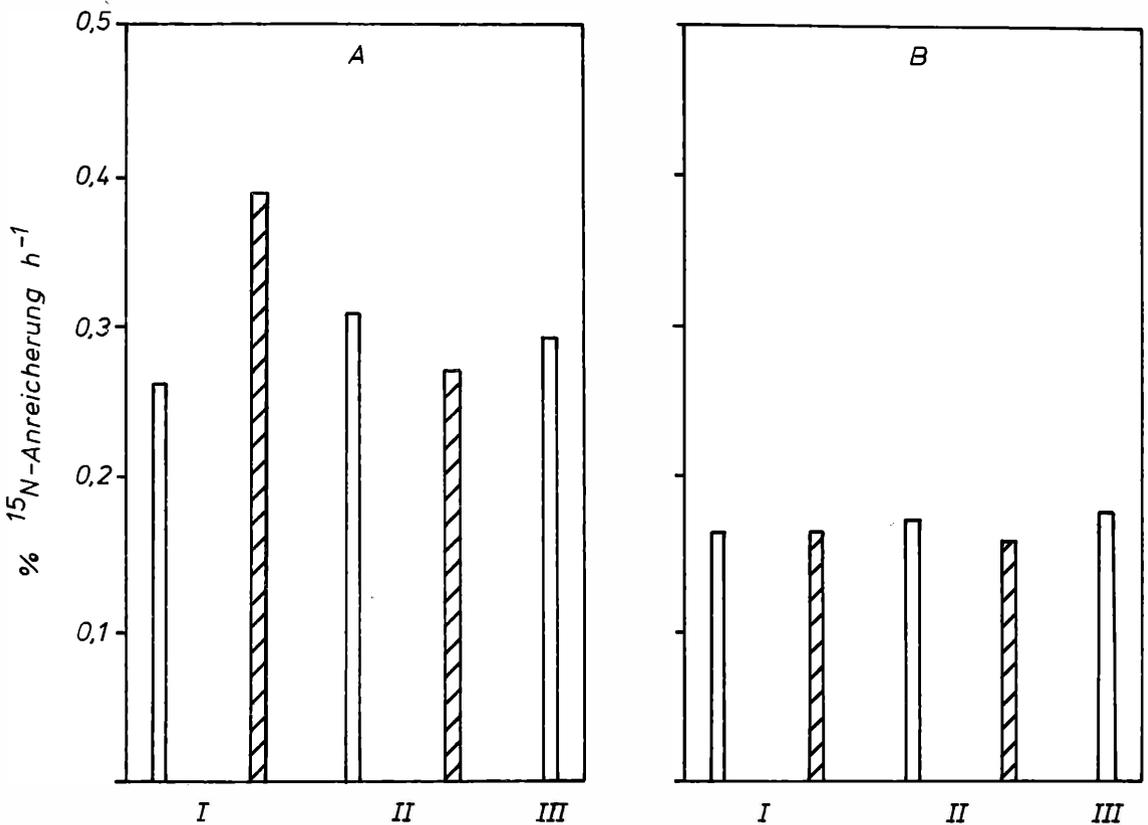


Abbildung 7

Die Aufnahme von ¹⁵N-Nitrat (100 μM) einer natürlichen Planktonpopulation in verschiedenen Tiefen (I=17, II=117, III=267 cm).

Das Phytoplankton bestand vor allem aus *Phaeocystis pouchetii* (60 %), *Rhizosolenia setigera* (21,7 %) und *Ceratium fusus* (7,7 %). Die Lichtintensitäten waren A 209 J cm⁻²h⁻¹ und B 101 J cm⁻²h⁻¹. □□□ UV-transparente und ▨▨▨ UV-undurchlässige Gefäße.

Thalassiosira rotula, unter Freilandbedingungen getestet. Nach 24-stündigem Wachstum in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen wurde dem Algengemisch ¹⁵N-Ammonium (110 μM) und ¹⁵N-Nitrat (330 μM) zugegeben und die Aufnahme dieser Substanzen im Tagesverlauf ermittelt (vgl. Abb. 6). Bei einem weniger sonnigen Tag (UV-Dosis 360 J m⁻²d⁻¹) wurde ein geringer Einfluß auf die Ammonium- und kein Einfluß auf die Nitrataufnahme beobachtet. Bei einem relativ hohen Anteil des Sonnenlichts (990 J m⁻²d⁻¹) wird die Aufnahme beider Substanzen deutlich gehemmt. Bei einer UV-Dosis von 590 J m⁻²d⁻¹ war die Nitrataufnahme teilweise erhöht, jedoch die Ammoniumassimilation signifikant reduziert. Das Diatomeengemisch reagiert demnach auf UV-B-Strahlung ähnlich wie Algenreinkulturen.

Die Untersuchungen an Reinkulturen sind durch Freilandexperimente vor Helgoland mit natürlichen Phytoplanktonpopulationen ergänzt worden. Die Planktonproben wurden in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen nach Fütterung mit ¹⁵N-markierten Substanzen in verschiedenen Wassertiefen im Nordosthafen Helgolands exponiert. Die Aufnahme von Ammonium und Nitrat ist nach verschiedenen Expositions- und Tageszeiten ermittelt worden (vgl. Abb. 7 u. 8). In Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen wurde die Rate der Ammoniumaufnahme durch hohe Lichtintensitäten bzw. durch den UV-Anteil des Sonnenlichts in den UV-transparenten Gefäßen (z.B. Quarzflaschen) stärker gehemmt als die Nitrataufnahme bei vergleichbaren Intensitäten. Unabhängig

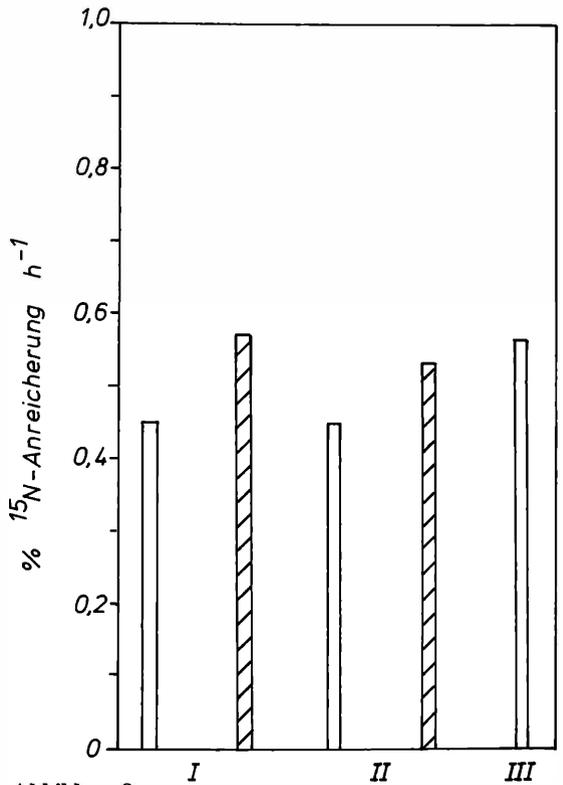


Abbildung 8

Die Aufnahme von ¹⁵N-Ammonium (100 μM) einer natürlichen Planktonpopulation in verschiedenen Tiefen (I=17, II=117, III=267 cm).

Die photoautotrophen Organismen waren *Phaeocystis pouchetii* (94,2 %) und *Rhizosolenia setigera* (5,1 %). Die Lichtintensität betrug 133 J cm⁻²h⁻¹. Weiter Angaben siehe Abb. 7.

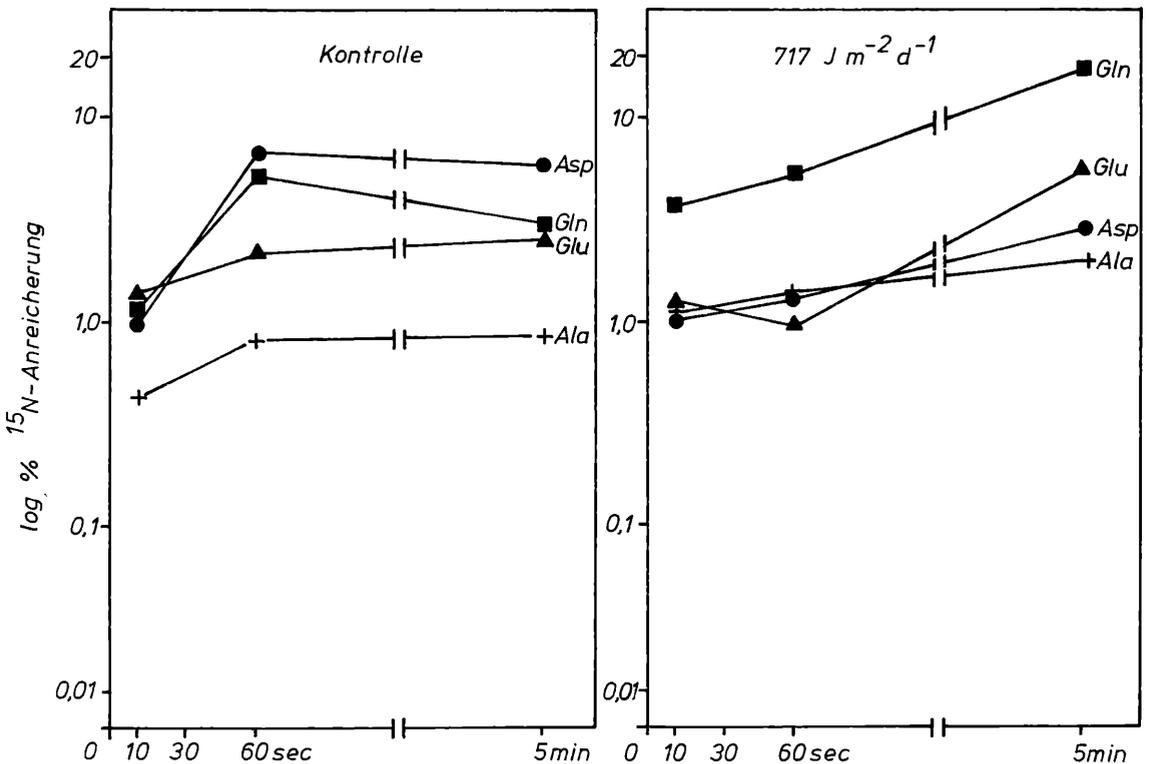
Lauderia annulata

Abbildung 9

Wirkung von UV-B (117 J m⁻² d⁻¹) auf die Kinetik des ¹⁵N-Einbaues in Alanin (Ala), Aspartat (Asp), Glutamat (Glu) und Glutamin (Gln) von *Lauderia annulata*.

Nach 15 min. Photosynthese wurde ¹⁵NH₄Cl (96 Atom%, Endkonzentration 1 mM) zugegeben. Die Algen wurden zwei Tage der UV-B-Bestrahlung (5h täglich) ausgesetzt (nach DÖHLER, G. und BIERMANN, I. 1987).

gig von der Jahreszeit und der Zusammensetzung des Planktons war die Aufnahmerate von Ammonium höher als die von Nitrat. In der Regel wurden nahe der Wasseroberfläche in den UV-transparenten Gefäßen niedrigere Werte als bei den Algen in UV-undurchlässigen Assimilationskammern gefunden (Abb. 7A u. 8). Bei niedriger Lichtintensität traten nur geringe Unterschiede in den Assimilationsraten der anorganischen Stickstoffverbindungen des in verschiedenen Tiefen exponierten Phytoplanktons unabhängig vom Gefäßtyp auf (vgl. Abb. 7B). Offensichtlich geht die Reduktion der Aufnahme von Ammonium und Nitrat auf den UV-Anteil des Sonnenlichts zurück. Der ¹⁵N-Einbau in die Aminosäuren des Phytoplanktons führte zu ähnlichen Ergebnissen wie bei den Reinkulturen von Mikroalgen. Demnach können die an Reinkulturen unter Laborbedingungen erzielten Ergebnisse zumindest teilweise auf das Verhalten der natürlichen Phytoplanktonpopulationen gegenüber UV-B-Streß übertragen werden.

in die Aminosäuren und Proteine nach bzw. während der UV-B-Bestrahlung untersucht. Bei *Lauderia annulata* ist der zeitliche Verlauf der ¹⁵N-Markierung von Alanin, Aspartat, Glutamat und

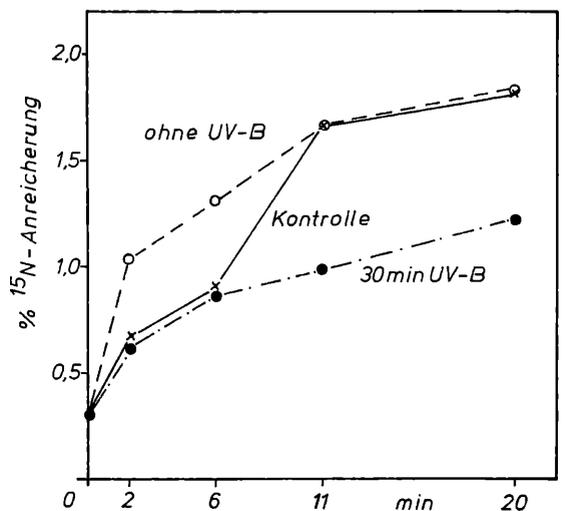


Abbildung 10

Einfluß von UV-B-Bestrahlung auf den ¹⁵N-Einbau in die lösliche Proteinfraction von *Ditylum brightwellii*.

Die Kontrollalgen und die Probe ohne UV-B sind in gleicher Weise vorbehandelt worden, d.h. Weißlichtbestrahlung und WG 360-Filter vor UV-Röhren. Während des Versuchs sind alle Algen einer Weißlichtbestrahlung ausgesetzt worden. Bei der Kontrollprobe wurde ein WG 360-Filter und bei den anderen Proben ein WG 305-Filter vor die UV-Röhren geschaltet.

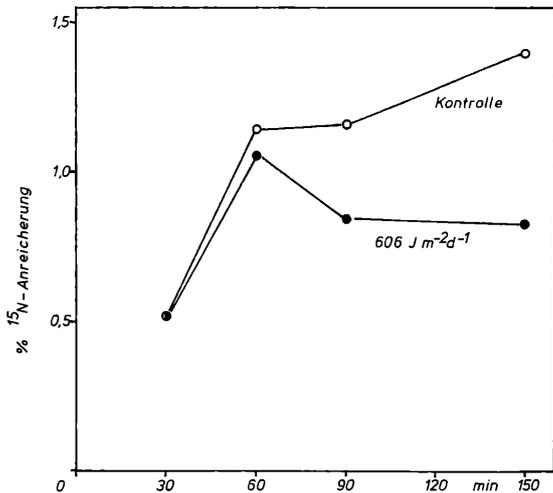


Abbildung 11

Einbau von ¹⁵N-Leucin in die lösliche Proteinfraktion von *Ditylum brightwellii* während der UV-B-Bestrahlung (606 J m⁻²d⁻¹).

Nach 30 min. Weißlichtbestrahlung wurde mit UV-B bestrahlt und ¹⁵N-Leucin (96 Atom%, Endkonzentration 1 mM) zugegeben.

Glutamin nach vorausgegangener zweitägiger UV-B-Bestrahlung (5 h pro Tag) ermittelt worden (Abb. 9). Danach bewirkt UV-B-Streß vor allem eine Erhöhung des ¹⁵N-Einbaues in Glutamin und eine Reduktion der ¹⁵N-Markierung von Aspartat und Glutamat. Ähnliche Ergebnisse wurden mit

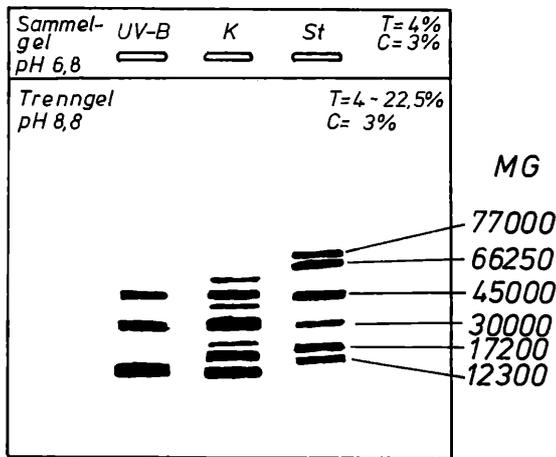


Abbildung 12

Proteinmuster von UV(1) - und nicht UV(2) - bestrahlten Kulturen von *Ditylum brightwellii*.

Die Algen wurden an zwei Tagen je 5 h mit einer Dosis von 717 J m⁻²d⁻¹ bestrahlt. Die Auftrennung erfolgte mittels horizontaler SDS-DISK-PAGE in einem linearen Porengradienten (T=4-22,5 %). Zur Molekulargewichtsbestimmung wurde ein Proteinstandard (3) aufgetrennt.

der Diatomee *Ditylum brightwellii* und der Rotalge *Porphyridium purpureum* erzielt. Diese Befunde deuten daraufhin, daß UV-B-Bestrahlung mit relativ niedriger Intensität (717 J m⁻²d⁻¹) bereits zu Beeinträchtigungen der Enzyme des Stickstoffmetabolismus führen kann.

DITYLUM BRIGHTWELLII						
Enzym	Kon- trolle	UV	%	Kon- trolle	UV	%
Glutaminsynthese- tase (GS)	351,3	421,5	+19,9	285,9	326,6	+14,2
Glutamatsynthase (GOGAT)	0,189	0,153	-19,0	0,179	0,146	-18,4
Glutamatdehydro- genase (GDH)	0,244	0,232	- 4,9	0,276	0,246	-10,9
Nitratreduktase (NR)	15,0	14,0	- 6,7			
LITHODESMIUM VARIABLE						
Alaninamino- transferase	80,10	8,70	-89,1			
Aspartatamino- transferase	6,48	6,20	- 4,3			

Tabelle 2

Einfluß von UV-B-Bestrahlung (717 J m⁻²d⁻¹) auf die Aktivitäten verschiedener Enzyme des N-Metabolismus von *Ditylum brightwellii* und *Lithodesmium variable*. Die Werte sind in der Regel in U mg⁻¹ Protein h⁻¹ außer bei der GS in nmol mg⁻¹ Protein min⁻¹ und in % Hemmung angegeben.

TYP 1	TYP 2	TYP 3
<p>Wirkung: Zunahme aller Aminosäuren</p> <p>Interpretation: Hemmung der Proteinsynthese</p> <p>Species: <i>Chaetoceros debilis</i></p>	<p>Zunahme von Glutamat</p> <p>Abnahme von Glutamin</p> <p>und Verringerung von Aspartat und Asparagin</p> <p>Hemmung der Glutamin- synthetase und Phosphoenol- pyruvat-Carboxykinase</p> <p>Thalassiosira punctigera Thalassiosira rotula</p>	<p>Glutamin</p> <p>Glutamat</p> <p>A: und Anstieg des Alanin-pools Interpretation: Hemmung der Glutamatsynthase und Alaninamino-transferase.</p> <p>Species: <i>Lauderia annulata</i></p> <p>B: und Anstieg des Aspartat-pools. Interpretation: Hemmung der Glutamatsynthase und Steigerung der Phosphoenolpyruvat-Carboxy- kinase.</p> <p>Species: <i>Asterionella glacialis</i> <i>Ditylum brightwellii</i></p> <p>C: und Reduktion des Aspartat-pools. Interpretation: Hemmung der Glutamatsynthase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase.</p> <p>Species: <i>Bellerochea spinifera</i> <i>Bellerochea yucatanensis</i> <i>Odontella regia</i> <i>Odontella sinensis</i></p>

Abbildung 13

Zusammenfassende Darstellung der UV-B-Wirkung auf die Poolgrößen freier Aminosäuren von Meeressdiatomeen sowie deren Interpretation.

In einer anderen Versuchsserie ist der ^{15}N -Einbau in die lösliche Proteinfraktion während der UV-B-Bestrahlung von *Ditylum brighwellii* nach einer 30 min. Adaptationsperiode und Zugabe von $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (0,5 mM Endkonzentration) verfolgt worden (vgl. Abb. 10). Während der UV-B-Exposition war kein wesentlicher Unterschied zwischen den Daten der Kontrollalgen und den Diatomeen ohne vorausgegangene UV-B-Behandlung feststellbar. Nach einer 30-minütigen UV-B-Bestrahlung ($151 \text{ J m}^{-2}\text{d}^{-1}$) konnte dagegen eine Reduktion der Proteinmarkierung um 30 % beobachtet werden. Zu einem ähnlichen Ergebnis führte die Untersuchung des ^{15}N -Leucin-Einbaues in die Proteinfraktion von *Ditylum* (Abb. 11). Nach 30 min. Weißlichtbestrahlung und mit Beginn der UV-B-Behandlung wurde der 1. Wert der Aufnahme von ^{15}N -Leucin bestimmt. Im weiteren Verlauf der UV-B-Bestrahlung nimmt der Leucineinbau in die Proteinfraktion um 45 % nach 2 Std. ab. In der anschließenden Weißlichtphase wurde ein Anstieg im ^{15}N -Leucineinbau bereits nach 30 min. beobachtet. Zum gleichen Ergebnis führten Experimente mit ^3H -Leucin. In weiteren Experimenten soll im Detail geprüft werden, in welchem Umfang das Aufnahmesystem für Aminosäuren und die Proteinsynthese durch UV-B gehemmt werden.

In Ergänzung zu den ^{15}N -Versuchen wurde die UV-B-Wirkung auf das Proteinmuster von *Ditylum brighwellii* untersucht. Die Abb. 12 zeigt, daß Proteinbanden im niedermolekularen Bereich in den UV-B-behandelten Algen fehlen. Inwieweit die einzelnen Proteine den Enzymen des Stickstoff- und Kohlenstoffmetabolismus zuzuordnen sind, muß die weitere Untersuchung zeigen.

6. Schlußfolgerungen

Als wichtiges Ergebnis der Untersuchungen über

die UV-B-Wirkung kann festgehalten werden:

- a) Die Mikroorganismen, vor allem das Phytoplankton, sind besonders empfindlich gegenüber UV-B-Streß.
- b) Es treten art- und stadienspezifische Unterschiede im Verhalten gegenüber UV-B-Behandlung auf.
- c) Der Metabolismus des Stickstoff wurde stärker geschädigt als der des Kohlenstoffs.

Eine Untersuchung des Pools freier Aminosäuren nach vorausgegangener UV-B-Bestrahlung zeigte, daß je nach Diatomeenart unterschiedliche Reaktionen auftraten (vgl. Abb. 13). Danach wurden drei verschiedene Typen beobachtet. Bei dem größten Teil der getesteten Mikroorganismen, einschließlich Diatomeen, wurde nach UV-B-Streß eine deutliche Zunahme von Glutamin und Reduktion von Glutamat festgestellt, was mit einer Hemmung der Glutamatsynthese-Aktivität erklärt wurde. Aus diesem Grunde sind die Aktivitäten verschiedener Schlüsselenzyme des Stickstoffmetabolismus gemessen worden (Tab. 2). Die Befunde bestätigen die Interpretationen in Abb. 13. In Abb. 14 ist der Einfluß von UV-B aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nochmals zusammengefaßt worden. In welchem Ausmaß die Enzymsynthese und die Regulationsmechanismen der einzelnen Stoffwechselwege durch UV-B beeinträchtigt werden, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

7. Ökologische Folgen

Die biologischen Effekte einer erhöhten UV-B-Strahlung als Folge des Ozonabbaues hat Veränderungen im Ökosystem zur Folge. Die Beeinträchtigung der Stoffwechselprozesse und damit verbunden die Reduktion der Zellinhaltsstoffe führen zu einer Verminderung der Primärproduktion. Die bisherigen Arbeiten verschiedener Forschungs-

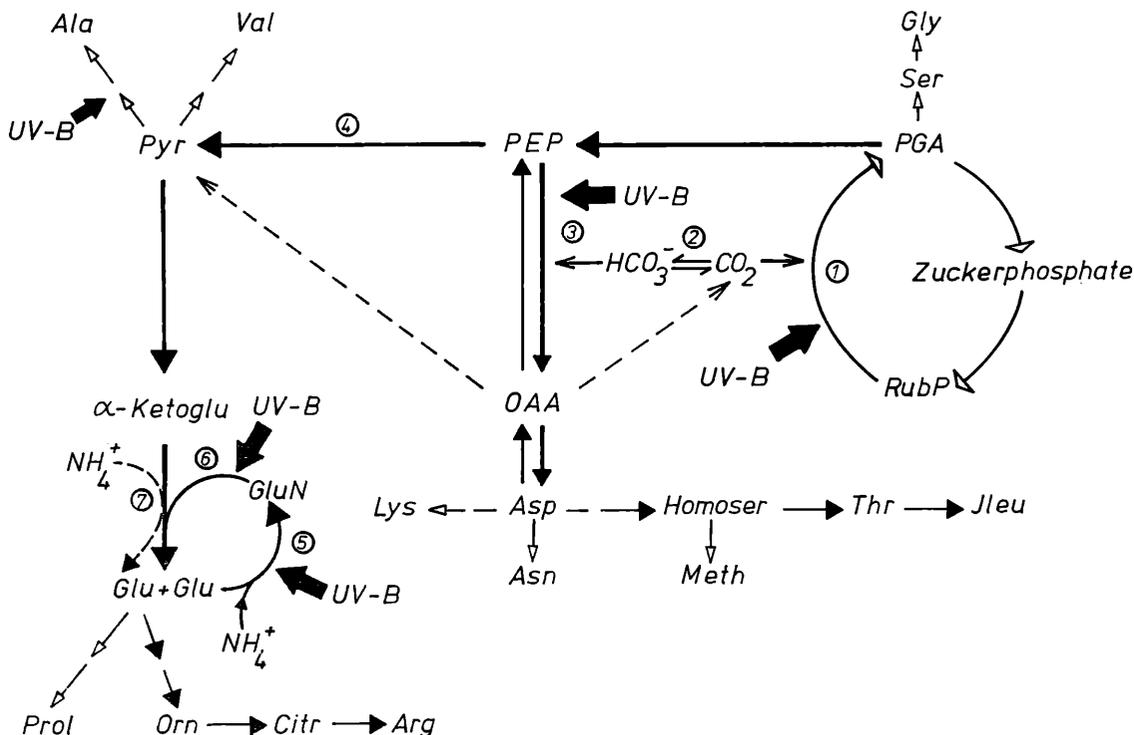


Abbildung 14

Schema des Kohlenstoff- und Stickstoffweges in marinen Diatomeen und möglicher UV-B-Einfluß.

3-Phosphoglycerinsäure (PGA) ist das erste stabile Produkt des Calvin-Cyclus und kann als Vorstufe von Phosphoenolpyruvat (PEP) – dem Acceptor der β -Carboxylierung – dienen. Das durch Dephosphorylierung entstehende Pyruvat ist ein wichtiges C-Skelett des Stickstoffweges nach dem GS/GOGAT-System.

gruppen zeigten, daß die Biomasseproduktion des marinen Phytoplanktons nahe der Wasseroberfläche durch den gegenwärtigen UV-Anteil der Sonnenstrahlung um mindestens 30 % reduziert wird (SMITH, R.C. et al. 1980). Eine Erhöhung der UV-B-Bestrahlung verursacht nach den vorliegenden Berechnungen eine weitere drastische Verringerung der Primärproduktion. Die unterschiedliche UV-B-Resistenz des Phytoplanktons verursacht – wie bereits wiederholt erwähnt – Veränderungen im Artengefüge des Ökosystems. Nach WORREST, R.C. et al. (1978) bleiben die Diatomeen dennoch die dominierenden Primärproduzenten. Da die Reproduktionsraten der empfindlichen Planktonarten stark abnehmen, steht den anderen weniger sensitiven Arten ein höheres Angebot an Nährstoffen und Licht zur Verfügung, was eine höhere Vermehrungsrate dieser Arten zur Folge hat. Durch diese Verschiebung des Gleichgewichts können die Quantität und die Qualität der Nahrung für die Primärkonsumenten drastisch beeinträchtigt werden und negative Auswirkungen für die Nahrungskette haben. Dies tritt vor allem dann auf, wenn UV-B-resistente Arten mit einem geringen Nährwert dominieren.

Dem Bundesministerium für Forschung und Technologie, Bonn und der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, München sei für die Unterstützung besonders gedankt.

Literatur

- BRADFORD, M.M. (1976):
A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Proteindye Binding. – *Analyt. Biochem.* 72: 248-254.
- CALDWELL, M.M. (1971):
Solar UV Irradiation and the Growth and Development of Higher Plants; In: Giese, A.C. (ed.): *Photophysiology*, Academic Press, New York. Vol. 6: 131-177.
- CALKINS, J. and THORDARDOTTIR, T. (1980):
The Ecological Significance of Solar UV Radiation on Aquatic Organisms. – *Nature* 283: 563-566.
- COLLOS, Y. and SLAWYK, G. (1979):
¹³C and ¹⁵N Uptake by Marine Phytoplankton. 1. Influence of Nitrogen Source and Concentration in Laboratory Cultures of Diatoms. – *J. Phycol.* 15: 186-190.
- DATZ, G. (1981):
Untersuchungen zur Lipid- und Fettsäurezusammensetzung synchroner Kulturen von *Synechococcus* unter besonderer Berücksichtigung der photosynthetischen Membranen. – Dissertation Frankfurt a. M.
- DÖHLER, G. (1982):
Effect of UV-B radiation on the marine diatom *Bellerochea yucatanensis*; In: Bauer, H., Caldwell, M.M., Tevini, M. and Worrest R.C. (eds.): *GSF*, München, pp. 211-215.
- (1984a):
Effect of UV-B Radiation on Biomass Production, Pigmentation and Protein Content of marine Diatoms. – *Z. Naturforsch.* 39c: 634-638.
- (1984b):
Effect of UV-B radiation on the marine diatoms *Lauderia annulata* and *Thalassiosira rotula* grown in different salinities. – *Marine Biology* 83: 247-253.
- (1985):
Effect of UV-B Radiation (290-320 nm) on the Nitrogen Metabolism of Several Marine Diatoms. – *J. Plant Physiol.* 118: 391-400.
- DÖHLER, G. and BIERMANN, T. (1989):
Impact of UV-B on lipid and fatty acid composition of synchronized *Ditylum brightwellii*. – (In Vorbereitung).
- DÖHLER, G., BIERMANN, I. and ZINK, J. (1986):
Impact of UV-B Radiation on Photosynthetic Assimilation of ¹⁴C-Bicarbonate and Inorganic ¹⁵N-Compounds by Cyanobacteria. – *Z. Naturforsch.* 41c: 426-432.
- DÖHLER, G., KRAUSE, K.-D. (1989):
Effect of ambient solar UV-radiation on nitrogen metabolism of a diatom community. – (In Vorbereitung).
- DÖHLER, G. und ROSSLENBROICH, H.-J. (1981):
Photosynthetic Assimilation of ¹⁵N-Nitrate Uptake in the Marine Diatoms *Bellerochea yucatanensis* and *Skeletonema costatum*. – *Z. Naturforsch.* 36c: 834-839.
- DÖHLER, G. und STOLTER, H. (1986):
Impact of UV-B Radiation on Photosynthesis-Mediated Uptake of ¹⁵N-Ammonia and ¹⁵N-Nitrate of Several Marine Diatoms. – *Biochem. Physiol. Pflanzen* 181: 533-539.
- DÖHLER, G., WORREST, R.C., BIERMANN, I. and ZINK, J. (1987):
Photosynthetic ¹⁴CO₂ fixation and ¹⁵N-ammonia assimilation during UV-B radiation of *Lithodesmium variabile*. – *Physiol. Plantarum* 70: 511-515.
- DUGDALE, R.C. und GOERING, J.J. (1967):
Uptake of New and Regenerated Forms of Nitrogen in Primary Production. – *Limnol. Oceanogr.* 12: 196-206.
- FEHRNSTRÖM, H. and MOBERG, U. (1977):
SDS and conventional polyacrylamide gel electrophoresis with LKB 2117 Multiphor. LKB Application note 306, Bromma, Schweden.
- GESSNER, F. und DIEHL, A. (1951):
Die Wirkung der natürlichen Ultraviolettstrahlen auf die Chlorophyllzerstörung von Planktonalgen. – *Arch. Mikrobiol.* 15: 439-454.
- GROAT, G.R. and VANCE, C.P. (1981):
Root Nodule Enzymes of Ammonia Assimilation in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). – *Plant Physiol.* 67: 1198-1203.
- HALLDAL, P. (1979):
Effects of changing levels of ultraviolet radiation on phytoplankton; In: BISWAS, A.K. (ed.): *The Ozon Layer*. Pergamon Press, Oxford, pp. 21-34.
- HATCH, M.D. and MAU, S.H. (1973):
Activity, location and pool of aspartate aminotransferase isoenzymes in leaves with C₄ pathway photosynthesis. – *Arch. Biochem. Biophys.* 156: 195-206.
- JEFFREY, S.W. and HUMPHREY, G.F. (1975):
New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. – *Biochem. Physiol. Pflanzen* 167: 191-194.
- LEA, P.J. and MIFLIN, B.J. (1979):
5. Photosynthetic Ammonia Assimilation; In: GIBBS, M. and LATZKO, E. (eds.): *Photosynthesis II*. *Encycl. Plant Physiol.*, New Series, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, Vol. 6, pp. 445-456.
- SHAPIRO, B.M. and STADTMANN, E.R. (1970):
Glutamine Synthetase (*Escherichia coli*). In: TABOR, H. and TABOR, C.W. (eds.): *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, Vol. 17a, pp. 910-922.
- SMITH, R.C. and BAKER, K.S. (1980):
Stratospheric ozone, middle ultraviolet radiation and carbon-14 measurements of marine productivity. – *Science* 208: 592-593.

STEEMANN-NIELSEN, E. (1964):

On a Complication in Marine Productivity Work due to the Influence of Ultraviolet Light. – J. Cons. Int. Explor. Mer. 29: 130-135.

VON STOSCH, H. A. und DREBES, G. (1964):

Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. 4. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris*, ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. – Helgol. wissensch. Meeresunters. 11: 209-257.

SYRETT, P. J. (1981):

Nitrogen metabolism of Microalgae; In: Platt, T. (ed.): Physiological Bases of Phytoplankton Ecology, Can. Governm. Publ. Centre: Bull. No. 210: 182-210.

THOMSON, B. E., WORREST, R. C. and H. VAN DYKE, H. (1980):

The growth response of an estuarine, diatom (*Melosira nummuloides* Dill. Ag.) to UV-B (290-320 nm) radiation. *Estuaries* 3, 69-72.

ULLRICH, W. R. (1983):

Uptake and Reduction of Nitrate in Algae and Fungi; In: Läuchle, A. and Bielecki, R. L. (eds.): Inorganic Plant Nutrition, *Encycl. Plant Physiol., New Series*: Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, Vol. 15a: 376-397.

WARBURG, O. und NEGELEIN, E. (1920):

Über die Reduktion der Salpetersäure in grünen Zellen. *Z. Biochem.* 110: 66-115.

WHEELER, P. A. (1983):

Phytoplankton nitrogen metabolism; In: Carpenter, E. J. and D. G. Capone (eds.): Nitrogen in the marine environment: Academic Press, New York, pp. 309-341.

WORREST, R. C. (1982):

Review of Literature Concerning the Impact of UV-B Radiation upon marine Organisms; In: Calkins, J. (ed.) The Role of Solar Ultraviolet Radiation in Marine Ecosystems: Plenum Publishing Corp., pp. 429-457.

WORREST, R. C., VAN DYKE, H. and THOMSON, B. E. (1978):

Impact of enhanced simulated solar ultraviolet radiation upon a marine community. *Photochem. Photobiol.* 27: 471-478.

Anschrift des Verfassers

Prof. Dr. G. Döhler
Botanisches Institut
der Universität Frankfurt
Siesmayerstr. 78
6000 Frankfurt 11

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Laufener Spezialbeiträge und Laufener Seminarbeiträge \(LSB\)](#)

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: [3_1988](#)

Autor(en)/Author(s): Döhler Günter

Artikel/Article: [Wirkung von UV-B-Strahlung auf den Stickstoffmetabolismus von marinem Phytoplankton 74-85](#)