

不同光质LED光源对坛紫菜单性叶状体的生长发育及生理指标的影响

钟晨辉¹, 韩军军², 唐隆晨¹, 何培民², 张鹏³, 林琪^{1*}

(1. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361013;
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
3. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325000)

摘要: 为掌握坛紫菜叶状体生长与发育的最适光谱成分, 实验以坛紫菜雌性叶状体为培养材料, 探究了不同光质(白、蓝、绿、红光)的LED光源对叶状体营养生长、发育分化、PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)及光合色素含量等生理指标的影响。结果显示, 在复合型白光下培养25 d后, 藻体的叶长和鲜重分别为单色光下的2.42~3.86倍和2.64~4.50倍, 白光下叶状体生长速率最快, 鲜重增加最多, 而单色光限制了藻体的营养生长。与白光下培养相比, 在红、绿光下培养, 藻体的藻胆蛋白合成受到明显限制, 藻红蛋白含量分别下降了44.1%和43.2%, 藻蓝蛋白含量分别下降了11.6%和12.5%。然而, 在蓝光下培养的藻体, 藻红蛋白和藻蓝蛋白含量较白光下分别增加了94.3%和16.2%, 且PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)值始终较高, 保持持续上升的趋势, 表现出对光源的长期适应。蓝、绿光在坛紫菜叶状体营养细胞发育成生殖细胞的过程中, 均能加快藻体梢部细胞的分化并提前进行单性生殖, 而白光和红光在这一过程中的效应不明显。其中, 蓝光能够促进单性生殖孢子萌发成正常的单性生殖丝状体, 而绿光则会阻断这一发育途径, 使单性生殖孢子萌发体的色素体暗淡、内含物中空, 最终消亡。研究表明, 单色光源限制了坛紫菜叶状体的营养生长, 且会对叶状体的光合色素组分和 F_v/F_m 产生较明显的影响, 但其中的蓝光可以诱导坛紫菜单性叶状体提前进行单性生殖。这也为进一步探讨坛紫菜叶状体的光适应机制提供了参考依据。

关键词: 坛紫菜; 光质; 单性生殖; 生长; 光合色素

中图分类号: S 917.3

文献标志码: A

光是光合作用进行的原动力, 光质和光强是光的两个重要属性, 广泛应用于光合生物的生长发育研究中^[1]。藻类的整个生命过程离不开光因子参与, 不仅受光强调控, 光质或光谱组成也影响着藻类生长发育、再生体诱导、形态建成及光合色素组分等, 不同的光质(红、绿、蓝、白光)对红藻门(Rhodophyta)^[2-4]、绿藻门(Chlorophyta)^[5-7]、褐藻门(Phaeophyta)^[8-12]以及蓝藻门(Cy-

anophyta)^[13]中多种藻类的生长发育均能产生不同程度的影响。对于红藻而言, 其自身赋有丰富的光适应策略, 不同光质的照射可能存在不同的响应差异^[14]。相关研究表明, 长时间(15 d)的红光照射能够促进长珊瑚藻(*Corallina elongata*)、海头红(*Plocamium cartilagineum*)和皱波角叉菜(*Chondrus crispus*)的叶绿素积累^[15-16], 长时间(21 d)的绿光照射有利于海膜(*Halymenia floresii*)生长和

收稿日期: 2018-05-30 修回日期: 2018-07-16

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-50); 福建省种业创新与产业化工程项目(2014S1477-10); 厦门南方海洋研究中心项目(15GZY021NF04); 温州市科技计划项目(N20150016)

通信作者: 林琪, E-mail: xmqlin@sina.com

叶绿素合成, 并提高红藻的藻红蛋白含量^[17], 具有类似蓝藻的互补色适应现象^[13]。

坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)隶属于红藻门, 原红藻纲(Protofloridae), 红毛菜目(Bangiales), 红毛菜科(Bangiaceae), *Pyropia*属^[18], 是中国南方沿海地区重要的海藻栽培种之一, 其生活史由微型丝状孢子体(2n)和大型叶状配子体(n)这两个异形交替世代组成^[19]。隔离培养单个坛紫菜叶状体细胞, 能够获得遗传纯合的丝状体, 且后代叶状体全部为单一性别^[19-20]。一些雌性叶状体在单性培养过程中存在典型的单性生殖行为, 成熟期藻体可产生大量单性生殖孢子并发育成丝状体^[21], 较适宜于研究其营养生长、配子发生及单性发育等。有研究发现, 长时间(25 d)的蓝光照射能明显促进坛紫菜自由丝状体的营养生长和光合色素合成^[4], 但不同光质下坛紫菜叶状体的生长发育及生理响应情况目前还不清楚。因此, 本研究以坛紫菜雌性叶状体为培养材料, 探讨了不同光质的发光二极管(light emitting diode, LED)光源对坛紫菜叶状体营养生长、发育分化及光合色素含量等生理指标的影响, 旨在掌握有利于坛紫菜叶状体生长与发育的最适光谱成分, 为今后深入研究其光适应机制提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

坛紫菜纯系通过人工单性生殖技术获得, 并以丝状体的形式保存于实验室内, 保存方法同Kato等^[22]。该品系叶状体藻体匀称, 成熟后全部为雌性, 均属于单性生殖叶状体^[21]。

1.2 实验方法

叶状体的培养 促熟该纯系丝状体^[23], 将其释放的壳孢子置于日光灯管下充气培养成叶状体, 培养条件: 温度(22±0.5) °C, 光量子通量密度(40±2) μmol photons/(m²·s), 光周期10L:14D, 盐度30。挑选同等规格[平均叶长(5.86±0.11) cm, 平均叶宽(2.61±0.06) mm]的健康叶状体幼苗用于实验。将叶状体幼苗分成4组, 培养密度为12株/瓶, 瓶子容积为5 000 mL, 每组设3个平行。采用PLA-20植物光照分析仪测定LED光源的波长, 以4种光质的LED光源(蓝光455~475 nm、绿光510~550 nm、红光580~630 nm和白光400~760 nm)作为照射光源, 其中白光

组为对照组。所有LED灯管安装在同一培养架的不同培养层, 且各培养层均被黑色不透明KT板密闭, 保持各层间的绝对隔离, 避免光源交叉污染。调节各培养层的灯管数量和照射高度, 使光量子通量密度控制在(40±2) μmol photons/(m²·s), 其他培养条件为光周期10L:14D, 温度(22±0.5) °C, 盐度30。每隔5 d更换1次MES培养液, 培养周期为25 d。

生长测定和显微观察 按照更换培养瓶内培养液的频率, 每隔5 d测定各实验组的藻体鲜重、长度和宽度, 其中宽度以叶状体中部宽度为准, 并计算藻体的特定生长率(specific growth rate, SGR)。计算公式:

$$SGR = (\ln S_T - \ln S_{T-5}) / 5 \times 100\%$$

式中, S_T 为第T天藻体鲜重, S_{T-5} 代表前一次藻体的鲜重。采用Leica DMI8倒置显微镜(德国莱卡公司)观察不同光照条件下的叶状体细胞形态变化并显微拍照。

PS II 最大光化学效率和光合色素含量测定 每隔5 d分别取各条件下培养的叶状体, 置于黑暗处暗适应20 min, 然后利用超便携式调制叶绿素荧光仪MINI PAM II (德国WALZ公司)测定藻体中部(根据预实验结果, 藻体中部色泽变化明显, 且不会因成熟解体而影响测定)的PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)。培养25 d后, 精确称量100 mg新鲜藻体, 在黑暗条件下剪碎后, 置于甲醇(100%)溶液中充分研磨, 4 °C避光过夜后离心(10 000 r/min, 10 min), 取上清液。之后用紫外可见分光光度计(UV-3200, 日本岛津公司)测定样本的吸光度, 按照Porra^[24]和Parsons等^[25]的方法分别测定叶绿素a (chlorophyll a, Chl.a)和类胡萝卜素(carotenoid, Car)含量。同时, 称量鲜藻100 mg, 置于8 mL磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 6.5)中研磨粉碎, 4 °C避光过夜后离心(19 000 r/min, 15 min), 取上清液, 按照Beer等^[26]报道的方法计算藻红蛋白(phycoerythrin, PE)和藻蓝蛋白(phycocyanin, PC)含量。

数据处理 采用Excel 2007计算实验数据并统计作图。SPSS Statistics 23.0软件对各组数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 差异显著水平设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 不同光质条件下叶状体的生长特性

在整个培养周期, 单色光下培养的坛紫菜

叶状体, 其营养生长(叶长和鲜重增加)较复合白光下均受到较为明显的限制。培养至第25天, 白光下藻体平均长度分别为蓝、绿、红光下藻体的2.66、3.86、2.42倍($P<0.05$), 所有单色光培养的藻体平均长度, 以红光下最大, 绿光下最小(图1, 图版 I)。藻体鲜重在培养周期随着培养时间的延长而增加。其中, 白光下藻体平均鲜重最大, 红、蓝光下次之, 绿光下最小, 白光下培养25 d的藻体鲜重分别为蓝、绿、红光下的3.83、4.50和2.64倍(图2)。

在不同光质条件下, 坛紫菜叶状体的SGR均随培养时间呈现先增加后降低的趋势, 但相同培养阶段的藻体SGR, 各组间存在差异。6~10 d阶段, 所有光质条件下的藻体SGR达到最大值, 白光下藻体SGR最大, 红光次之, 二者分别高出蓝光84.54%和57.33%, 高出绿光90.82%和63.27% ($P<0.05$)。11~15 d阶段, 绿光下的藻体SGR均高于其余单色光($P<0.05$)。16~20 d阶段, 红光下的藻体SGR高于其余单色光($P<0.05$)。21~25 d阶段, 蓝光下的藻体SGR最大, 高于其余光质下的藻体SGR ($P<0.05$)(图3)。

所有光质条件下的藻体均呈细长型, 生长形态较一致, 但其色泽变化差异明显(图版 I)。

起始培养的藻体中部营养细胞全部呈现红褐色, 含有典型的星状色素体(图版 II -1、II -2、II -3、II -4)。培养5 d后, 白光和蓝光下的藻体营养细胞排列紧密, 色泽开始加深, 色素体饱满(图版 II -5、II -6)。但绿光和红光下的藻体营养细胞增大, 色泽逐渐变浅, 色素体暗淡(图版 II -7、II -8)。随着培养时间的增加, 白光、蓝光、绿光和红光下的藻体细胞颜色分别呈桔红色(图版 II -9、II -13)、紫红色(图版 II -10、II -14)、黄绿色(图版 II -11、II -15)和浅黄色(图版 II -12、II -16)。

2.2 PS II 的最大光化学效率和光合色素含量变化

各光质下培养的坛紫菜叶状体光系统 II (PS II) F_v/F_m 随培养时间的延长, 总体上表现为先持续上升, 后趋于稳定的态势(图4)。其中, 单色光下培养的叶状体, 其 F_v/F_m 值均较复合白光下培养的叶状体有着较大幅度的提高, 这反映了坛紫菜单性叶状体在所受光照的光质发生改变以后, 可以通过短暂的适应性调整, 恢复或保持藻体的生长。各单色光中, 蓝光下培养的叶状体 F_v/F_m 值始终高于其他单色光, 且在实验的后期依然保持持续上升的趋势, 表现出对光源的长期适应。

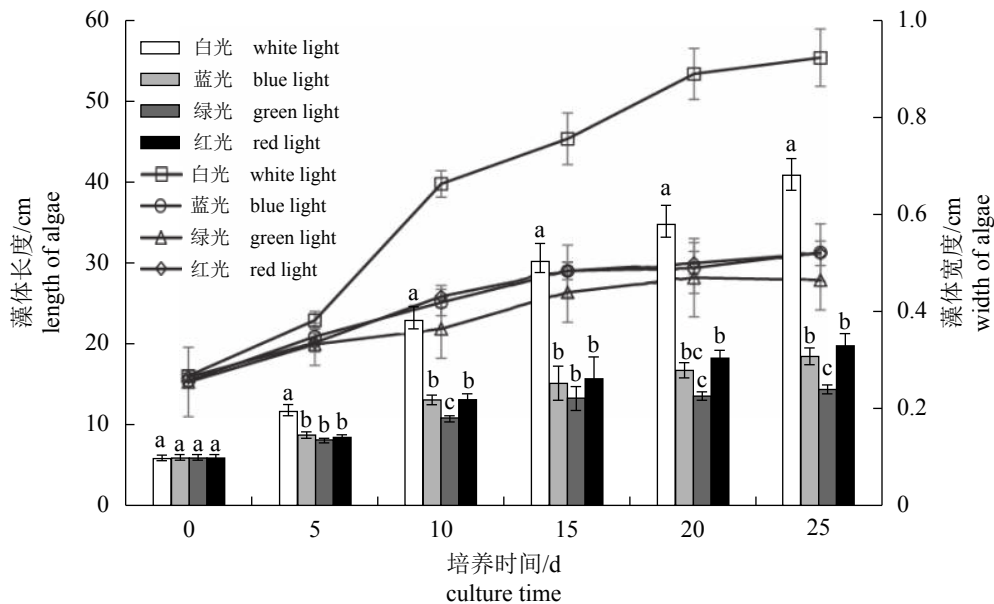
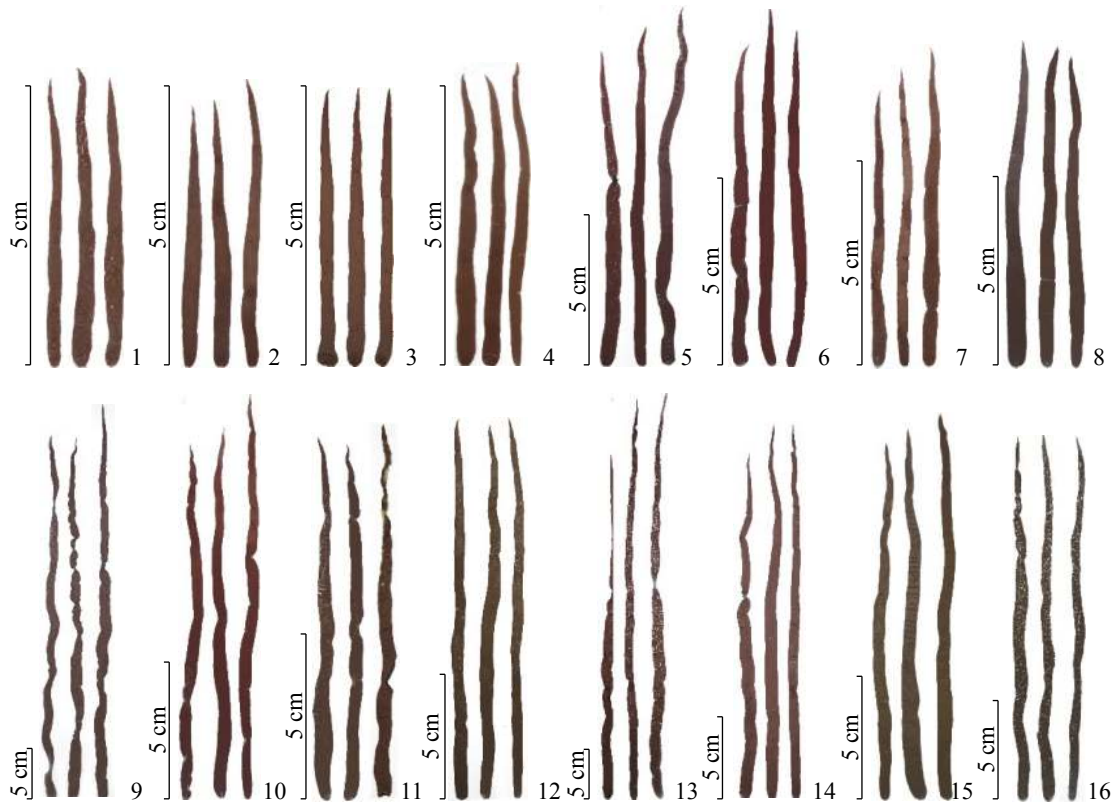


图 1 不同光质条件下坛紫菜叶状体的平均长度和平均宽度

不同字母表示同一时间内组间差异显著($P<0.05$), 下同

Fig. 1 Changes of average length and width of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

Different letters indicate significant difference among treatments in the same time ($P<0.05$), the same below



图版 I 不同光质条件下坛紫菜叶状体的色泽与生长形态

1、5、9和13分别代表叶状体在白光下培养0、5、15和25 d的藻体；2、6、10和14分别代表蓝光下培养0、5、15和25 d的藻体；3、7、11和15分别代表绿光下培养0、5、15和25 d的藻体；4、8、12和16分别代表红光下培养0、5、15和25 d的藻体

Plate I Observations of colors and shapes of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

1, 5, 9, 13 standing for blades of *P. haitanensis* under white light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; 2, 6, 10, 14 standing for blades of *P. haitanensis* under blue light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; 3, 7, 11, 15 standing for blades of *P. haitanensis* under green light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; 4, 8, 12, 16 standing for blades of *P. haitanensis* under red light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively

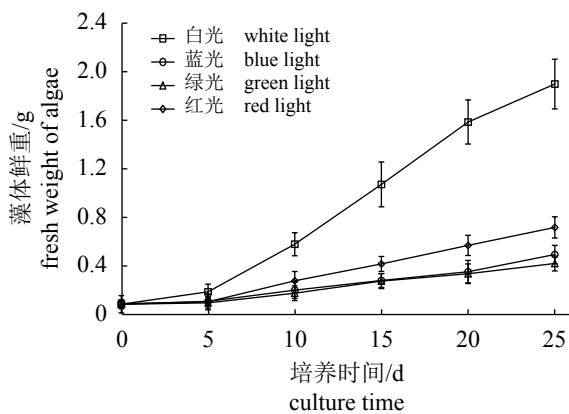


图2 不同光质条件下坛紫菜叶状体的平均鲜重变化

Fig. 2 Changes of average fresh weight of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

与复合白光相比，各单色光培养下的叶状体主要光合色素含量存在差异(图5，图6)。培养

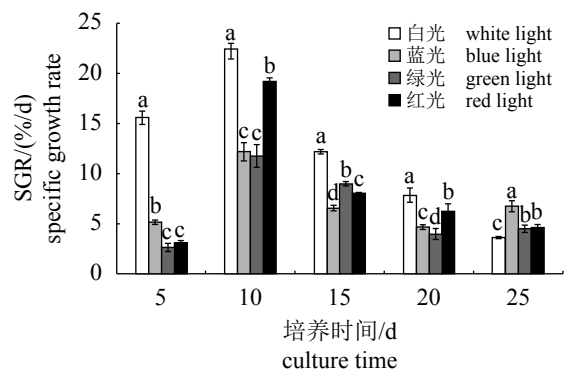
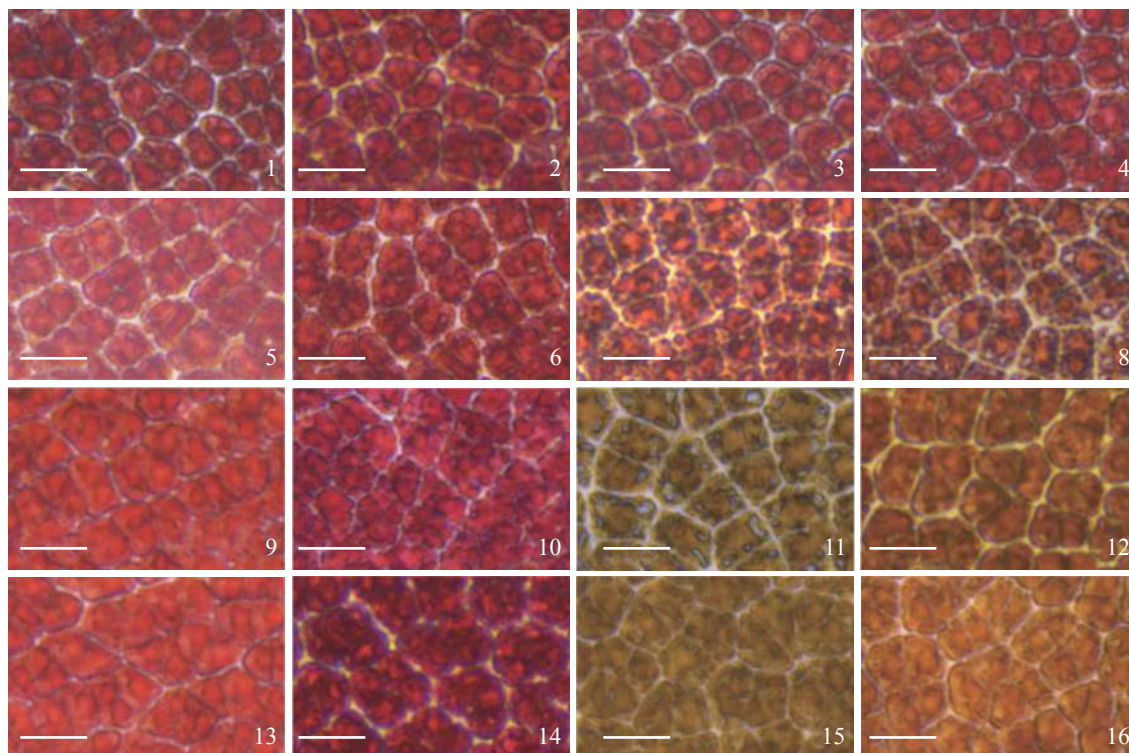


图3 不同光质条件下坛紫菜叶状体的特定生长率

Fig. 3 The SGR of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

25 d后，测定不同光质培养下藻体的光合色素含量，发现蓝光下藻体的Chl.a、Car、PE及PC含量均是各组间最高的，分别较复合白光下提高了



图版 II 不同光质条件下坛紫菜叶状体中部营养细胞的显微观察

1、5、9、13分别表示白光下培养0、5、15和25 d的叶状体营养细胞；2、6、10、14分别表示蓝光下培养0、5、15和25 d的叶状体营养细胞；3、7、11、15分别表示绿光下培养0、5、15和25 d的叶状体营养细胞；4、8、12、16分别表示红光下培养0、5、15和25 d的叶状体营养细胞；图中标尺代表100 μm

Plate II Observations of vegetative cells from middle parts of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

1, 5, 9, 13 showing vegetative cells of blades under white light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; 2, 6, 10, 14 showing vegetative cells of blades under blue light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; 3, 7, 11, 15 showing vegetative cells of blades under green light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; 4, 8, 12, 16 showing vegetative cells of blades under red light for 0, 5, 15 and 25 d, respectively; scale bars: 100 μm

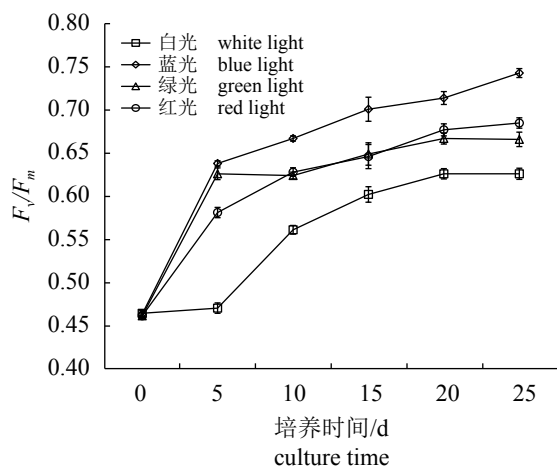


图4 不同光质条件下坛紫菜叶状体的 F_v/F_m 变化

Fig. 4 Changes of F_v/F_m of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

8.6%、11.5%、94.3%和16.2%，PE含量(62.52 mg/g)的显著升高以及PE/PC值(8.23)的上升(图7)使叶状

体细胞呈紫红色(图版 II-14)。绿光下培养，藻体的Chl.a和Car含量与正常白光下培养相比并没有明显的差异，但PE和PC含量较白光分别下降了43.2%和12.5%，显著降低的PE含量(18.29 mg/g)和PE/PC值(3.47)的下降使得叶状体细胞表现为黄绿色(图版 II-15)。红光下培养的藻体Chl.a、Car、PE和PC含量较白光分别下降了11.8%、17.4%、44.1%和11.6%，较低的光合色素及色素蛋白含量使叶状体细胞呈现为浅黄色(图版 II-16)。

2.3 蓝光和绿光下叶状体单性生殖行为的提早发生

不同光质的LED光源培养的坛紫菜雌性叶状体，其梢部细胞的分化与发育时序存在异同(表1)。蓝光和绿光均可诱导雌性叶状体梢部的营养细胞快速分化并形成生殖细胞(果胞)，随后通过单性生殖途径依次形成单性生殖孢子及其萌发体。然而，二者对藻体细胞发育的最终命

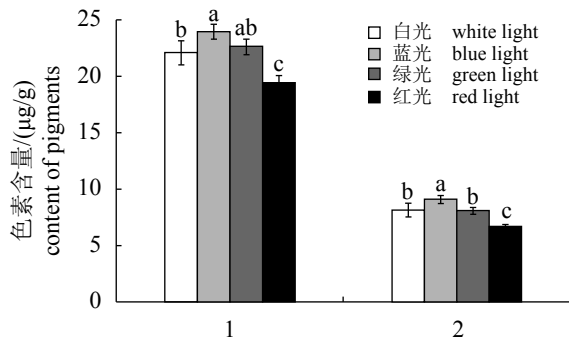


图5 不同光质条件下培养25 d的坛紫菜叶状体的Chl.a和Car含量

1.Chl.a; 2.Car

Fig. 5 Contents of chlorophyll a and carotenoid under different light qualities in the blades of *P. haitanensis* after culturing for 25 days

1.chlorophyll a; 2.carotenoid

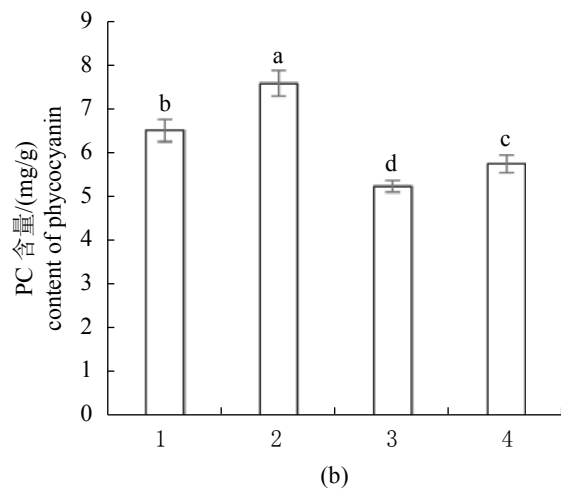
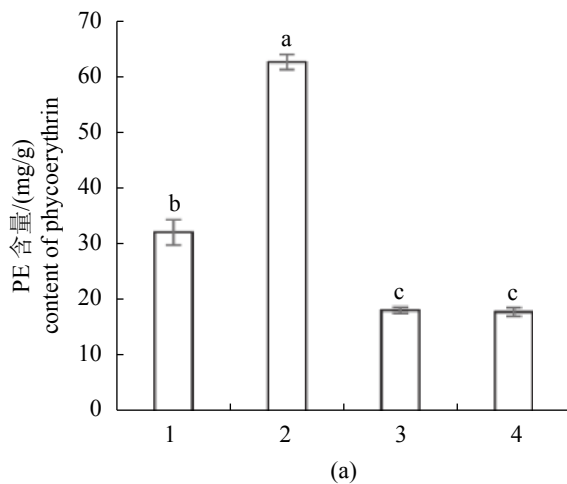


图6 不同光质条件下培养25 d的坛紫菜叶状体的PE(a)和PC(b)含量

1.白光; 2.蓝光; 3.绿光; 4.红光, 下同

Fig. 6 Contents of phycoerythrin(a) and phycocyanin(b) under different light qualities in the blades of *P. haitanensis* after culturing for 25 days

1.white light; 2.blue light; 3.green light; 4.red light, the same below

大量紫红色的单性孢子萌发体(图版 III-5, III-11)。但培养至25 d, 蓝光可以促使藻体(22.22%)梢部的单性孢子萌发体程序式发育成丝状体(图版 III-6), 而绿光却抑制了藻株(16.67%)梢部单性生殖孢子萌发体的继续发育, 造成细胞色素体消失, 内含物中空, 最后消亡(图版 III-12)。在整个培养周期, 白光和红光下的藻体始终保持营养生长, 至65 d时白光下的藻体才出现单性生殖行为, 而红光下的藻体此时仍未发生该现象。

运产生完全不同的影响。初始培养时, 蓝光和绿光下藻体的营养细胞都呈红褐色, 具有明显的星状色素体(图版 III-1, III-7)。培养5 d时, 藻株营养细胞对绿光极为敏感, 其细胞间距增大, 色素体变淡, 呈黄绿色(图版 III-8); 蓝光下细胞间距也增大, 色素体色泽则变化较小, 呈红紫色(图版 III-2)。培养至10 d, 蓝光下藻体的细胞色泽也开始变淡, 呈桔红色(图版 III-3); 而绿光下藻体的细胞褪色更加明显, 呈深黄绿色, 且极少量藻体(2.78%)的梢部开始出现生殖细胞(图版 III-9)。培养15 d时, 蓝光下的部分藻体(分别为8.33%、2.78%)梢部也分别形成大量的生殖细胞和单性生殖孢子(图版 III-4), 绿光下部分藻体(分别为8.33%、16.67%)梢部细胞加速分化, 分别出现单性孢子和单性孢子萌发体(图版 III-10)。到第20天时, 蓝光和绿光下分别有19.44%和36.11%的藻体形成了

3 讨论

3.1 不同光质对坛紫菜单性叶状体生长的影响

SGR是一个衡量生物体生长状况的常用指标, 其值越大, 代表生物量增长越快。前20 d培养阶段, 3种单色光(蓝、绿、红)下培养的藻体SGR都明显低于复合白光, 且整个培养周期的藻体叶长、叶宽及鲜重的增加也显著低于复合白光。这表明单色光源由于光谱组分的不完全, 限

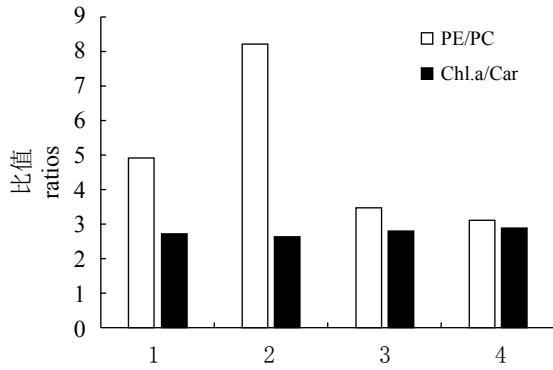


图7 不同光质条件下培养25 d的坛紫菜单性叶状体PE/PC和Chl.a/Car的值

Fig. 7 The values of PE/PC and Chl.a/Car under different light qualities in the blades of *P. haitanensis* after culturing for 25 days

表1 不同光质下坛紫菜单性叶状体单性生殖的发生时序

Tab. 1 The developmental timing of parthenogenesis of blades under different light qualities in *P. haitanensis*

光质 light quality	培养时间/d culture time					
	0	5	10	15	20	25
白光 white light	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)
蓝光 blue light	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (88.89%) RCs (8.33%) PSs (2.78%)	VCs (44.45%) RCs (16.67%) PSs (19.44%) PGs (19.44%)	VCs (13.90%) RCs (5.55%) PSs (22.22%) PGs (36.11%) PCs (22.22%)
	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (97.22%) RCs (2.78%)	VCs (69.45%) RCs (5.55%) PSs (8.33%) PGs (16.67%)	VCs (38.89%) RCs (8.33%) PSs (16.67%) PGs (36.11%)	VCs (11.11%) RCs (5.56%) PSs (30.55%) PGs (36.11%) DPGs (16.67%)
	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)
	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)	VCs (100%)

注: VCs.处于营养生长期的藻株; RCs.出现生殖细胞的藻株; PSs.出现单性生殖孢子的藻株; PGs.出现单性生殖孢子萌发体的藻株; PCs.出现单性生殖丝状体的藻株; DPGs.出现单性生殖孢子萌发体消亡的藻株; %表示出现以上类型的藻株数量占藻株总数的百分比

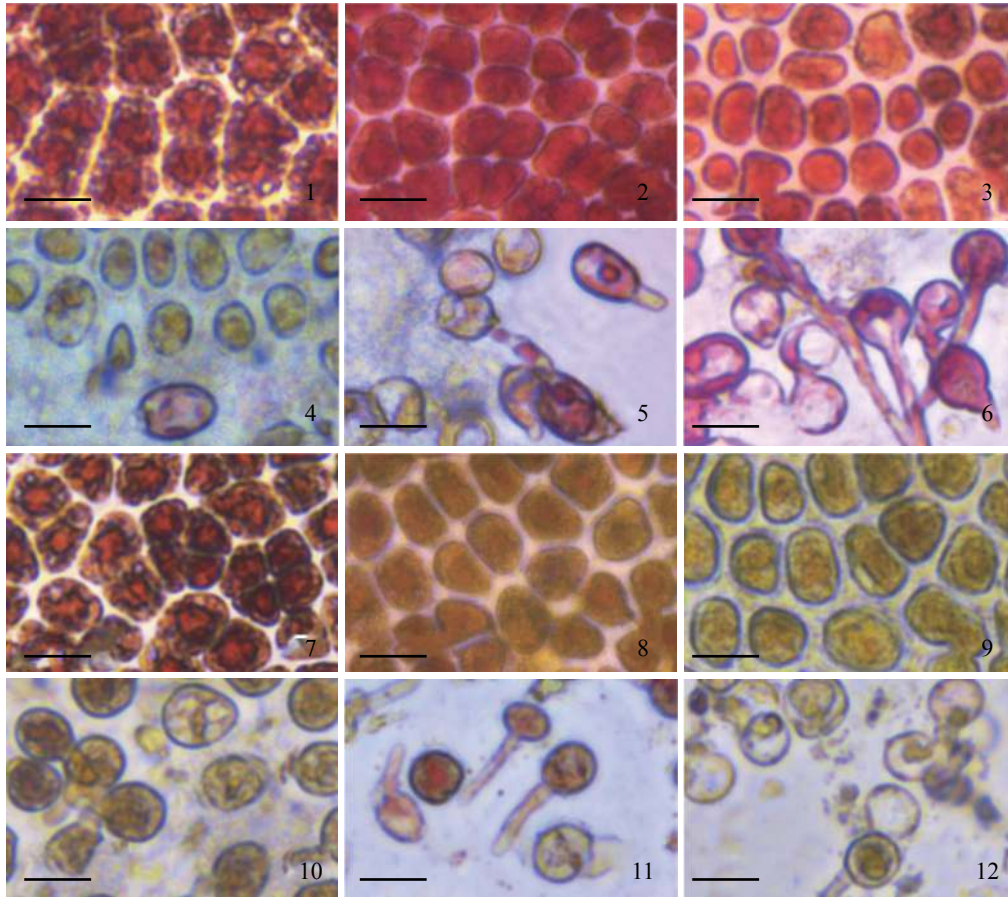
Notes: VCs. the algae with vegetative cells; RCs. the algae with reproductive cells; PSs. the algae with parthenogenetic spores; PGs. the algae with parthenogenetic spore germlings; PCs. the algae with parthenogenetic conchocelis; DPGs. the algae with demised parthenogenetic spore germlings; % represent the percentage of the blades of the above type in total blades

F_v/F_m 是PS II的最大光化学产量,直接反映了PS II的最大光能转化率,是植物潜在的最大光合活性^[30]。本研究中,蓝光培养的藻体 F_v/F_m 值始终高于其余光质下藻体的 F_v/F_m 值,且保持上升趋势,表明藻体具有较高的光合活性及对光源的长期适应性。但与白光相比,蓝光下藻体的SGR、叶长、叶宽和鲜重增加不占优势,说明蓝光并不适宜藻体的营养生长,而可能更利于细胞的发育分化。此外,所有光质下的藻体经过短暂的适应调整都可以恢复或保持生长,这预示着坛紫菜单性叶状体具有较强的光适应性。

制了坛紫菜单性叶状体的营养生长,而复合型的LED白光光源对于坛紫菜单性叶状体的生长最为有利。3种单色光中,以红光下藻体的叶长、叶宽和鲜重增加最大,这与对脐形紫菜(*Porphyra umbilicalis*)^[2]、角叉菜(*C. ocellatus*)^[3]、*P. leucosticta*^[27]和帚状江蓠(*Gracilaria edulis*)^[28]等的研究结果相似。然而,类似于蓝光对坛紫菜自由丝状体^[4]的促生长效应并未发生在坛紫菜单性叶状体的营养生长期,而是加速了藻体的细胞分化,形成生殖细胞。这种坛紫菜丝状体与叶状体对光子吸收的差异,可能与二者的类囊体、光系统和光合色素含量存在较大差异有关,导致二者的光受体对光子的捕获存在选择性差异,在生活史的不同世代形成了不同的光适应机制^[29]。

3.2 不同光质对坛紫菜单性叶状体光合色素含量的影响

藻类的生长主要通过光合作用来实现,光合色素含量可以一定程度地反映出光合作用效率,其中叶绿素是主要的光能吸收物质,直接影响着藻体光合作用的光能利用^[22]。叶绿素a和类胡萝卜素含量决定了藻体对光子的吸收能力,而藻胆蛋白除了可以吸收和传递能量之外,还可以作为细胞中的“贮存蛋白”,充当有机氮储存库^[31]。本研究发现,不同的光质照射会明显影响坛紫菜单性叶状体的色泽和藻胆蛋白组分。蓝光下



图版 III 蓝光和绿光下坛紫菜叶状体梢部细胞的单性发育

1.初始的营养细胞；2.蓝光培养5 d的营养细胞；3.蓝光培养10 d的营养细胞；4.蓝光培养15 d形成的生殖细胞与单性生殖孢子；5.蓝光培养20 d形成的单性生殖孢子萌发体；6.蓝光培养25 d形成的单性生殖丝状体；7.初始的营养细胞；8.绿光培养5 d的营养细胞；9.绿光培养10 d形成的生殖细胞；10.绿光培养15 d形成的单性生殖孢子及其萌发体；11.绿光培养20 d形成的单性生殖孢子萌发体；12.绿光培养25 d后消亡的单性生殖孢子萌发体；图中标尺代表100 μm

Plate III Observations of parthenogenetic development in apical parts of blades under blue and green lights in *P. haitanensis*

1.vegetative cells at initial stage; 2.vegetative cells under blue light for 5 d; 3.vegetative cells under blue light for 10 d; 4.formation of reproductive cells and parthenogenetic spores under blue light for 15 d; 5.formation of parthenogenetic spore germlings under blue light for 20 d; 6.formation of parthenogenetic conchocelis under blue light for 25 d; 7.vegetative cells at initial stage; 8.vegetative cells under green light for 5 d; 9.formation of reproductive cells under green light for 10 d; 10.formation of parthenogenetic spores and their germlings under green light for 15 d; 11.formation of parthenogenetic spore germlings under green light for 20 d; 12.demised parthenogenetic spore germlings under green light for 25 d; scale bars: 100 μm

叶状体的Chl.*a*、Car、PE和PC含量都显著高于白光组，而红、绿光下藻体的藻胆蛋白含量明显低于白光组，表明蓝光促进了光合色素的合成，红、绿光则反之。这与对脐形紫菜的研究结果相一致^[2]。此外，红光下藻体比绿光下合成了更多的PC，类似于红光对脐形紫菜、长珊瑚藻、海头红等产生的互补色适应^[15]，但二者的PE含量无差异则说明绿光没有提高藻体的PE合成量，绿光下培养并不存在互补色适应。

Chl.*a*与PS I、藻胆蛋白与PS II密切相关^[32]。蓝光下藻体中部的营养细胞呈紫红色，PE、PC

含量升高，可能增加了更多数量的藻胆体，从而促进了与PS II相关的藻胆蛋白合成^[2]。然而，随着蓝光下藻体的Chl.*a*、PE和PC含量的升高，其营养生长反而较白光减缓，说明蓝光下藻体光合反应合成的含碳化合物可能存在碳素再分配机制(carbon-partitioning)，被转化成合成蛋白质所需的含氮化合物^[33]，以藻胆蛋白这类“贮存蛋白”形式存储起来^[31]，从而为后续的细胞分化与单性生殖提供了物质积累。蓝光提高了坛紫菜叶状体光合反应的光电子传递速率和光合活性，但减缓了其营养生长，这可能是蓝光诱导了光

合色素合成相关基因的上调表达和细胞分裂及生长相关调节基因的下调表达,这种延滞DNA复制和细胞分裂的现象在莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)和杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)中也曾被报道^[34-35]。但有关单色光质下坛紫菜单性叶状体细胞调节光合色素合成并改变表现色泽的分子机制还有待进一步研究。

3.3 蓝光和绿光促发坛紫菜叶状体的单性生殖

光质对藻类的生殖发育具有重要的影响,主要体现在刺激或限制配子及孢子的形成和释放^[36]。坛紫菜的单性生殖行为是单性叶状体在缺乏异性配子时的一种生殖策略,雌性叶状体的单性发育过程涉及雌配子(果胞)、单性生殖孢子及其萌发体等的形成^[21]。坛紫菜单性叶状体对绿光最敏感,其原因是藻体可能含有绿光受体^[16],这种绿光促进孢子萌发的现象在淡水红毛菜(*Bangia atropurpurea*)中也有报道^[37]。然而,长时间的绿光照射不利于单性生殖孢子萌发体的发育,其萌发体最终消亡,这说明单一的绿光抑制了单性生殖丝状体的形成,这与绿光对自由丝状体的生长抑制结果相类似^[4]。此外,光合生物在没有受到逆境胁迫时,其 F_v/F_m 值维持在稳定的水平,而当受到胁迫时, F_v/F_m 值则会下降^[38]。在本研究中,绿光下培养10 d时的藻体 F_v/F_m 值出现下降,这表明此时藻体的营养细胞受到环境胁迫,促使梢部细胞加速分化,提早进行单性发育。本研究中的绿光和蓝光都能促进叶状体雌配子(果胞)、单性生殖孢子的形成与释放。但与绿光不同的是,长时间的蓝光下培养能诱导藻体提前单性发育并产生正常的单性生殖孢子萌发体和单性生殖丝状体。此外,在蓝光下培养,坛紫菜叶状体的 F_v/F_m 值持续上升,表现出对光源的长期适应。这种对蓝光的长期适应性,可能与藻体含有控制光合色素合成的蓝光受体基因有关^[16, 39],这使得藻体可以通过调节色素合成途径而生存在长期的蓝光环境中。

自然环境下,紫菜叶状体阶段主要分布于沿海潮间带,其所受光照为普通的太阳光(复合型白光),但随着叶状体逐步成熟并形成丝状体,生活环境也由浅水位的潮间带岩礁逐渐转移至水位较深的潮下带贝壳珍珠层中^[40],这使得正常的太阳光在透过较深的水层时,长波长的可见光被海水所吸收,只剩下较少的短波长的

蓝绿光^[41]。通过比较坛紫菜单性叶状体和丝状体在不同光源下的生长情况发现,无论是白光下叶状体的快速生长,还是蓝光下诱导单性生殖提前发生及丝状体的快速生长^[7],均与其生活史阶段的自然环境中的光谱组分接近,这可能是该物种为适应异形世代的不同生存环境而长期进化的结果。此外,蓝光促发坛紫菜单性生殖提前发生,也为快速建立坛紫菜的丝状体遗传纯系和固定杂种优势等提供了新思路和新方法。

参考文献:

- [1] 郑洁,胡美君,郭延平.光质对植物光合作用的调控及其机理[J].应用生态学报,2008,19(7):1619-1624.
Zheng J, Hu M J, Guo Y P. Regulation of photosynthesis by light quality and its mechanism in plants[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(7): 1619-1624(in Chinese).
- [2] Figueroa F L, Aguilera J, Niell F X. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. European Journal of Phycology, 1995, 30(1): 11-18.
- [3] Ju Q, Xiao H, Wang Y, et al. Effects of UV-B radiation on tetraspores of *Chondrus ocellatus* Holm (Rhodophyta), and effects of red and blue light on repair of UV-B-induced damage[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2015, 33(3): 650-663.
- [4] 韩军军,钟晨辉,何培民,等.不同光质LED光源对坛紫菜自由丝状体生长和生理特性的影响[J].水产学报,2017,41(2):230-239.
Han J J, Zhong C H, He P M, et al. Effects of different light-qualities on growth and physiological characteristics of free living conchocelis of *Pyropia haitanensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(2): 230-239(in Chinese).
- [5] Terborgh J. Effects of red and blue light on the growth and morphogenesis of *Acetabularia crenulata*[J]. Nature, 1965, 207(5004): 1360-1363.
- [6] Clauss H. Effect of red and blue light on morphogenesis and metabolism of *Acetabularia mediterranea*[M]//Brachet J, Bonotto S. Biology of *Acetabularia*. New York: Academic Press, 1970: 177-191.
- [7] Wennicke H, Schmid R. Control of the photosynthetic apparatus of *Acetabularia mediterranea* by blue light[J]. Plant Physiology, 1987, 84(4): 1252-1256.

- [8] Lüning K, Dring M J. Reproduction, growth and photosynthesis of gametophytes of *Laminaria saccharina* grown in blue and red light[J]. Marine Biology, 1975, 29(3): 195-200.
- [9] Lüning K, Neushul M. Light and temperature demands for growth and reproduction of Laminarian gametophytes in southern and central California[J]. Marine Biology, 1978, 45(4): 297-309.
- [10] Wang W J, Sun X T, Wang F J. Effect of blue light on early sporophyte development of *Saccharina japonica* (Phaeophyta)[J]. Marine Biology, 2010, 157(8): 1811-1817.
- [11] Zhang X, Li D P, Hu H H, et al. Growth promotion of vegetative gametophytes of *Undaria pinnatifida* by blue light[J]. Biotechnology Letters, 2005, 27(19): 1467-1475.
- [12] Müller S, Clauss H. Aspects of photomorphogenesis in the brown alga *Dictyota dichotoma*[J]. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, 1976, 78(5): 461-465.
- [13] 卢菁菁, 李敦海. 发光二极管光质对念珠藻葛仙米生长及生理生化特性的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(2): 257-261.
- Lu J J, Li D H. Effect of light-emitting diode light quality on the growth and physiological and biochemical characteristics of *Nostoc sphaeroides*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(2): 257-261(in Chinese).
- [14] Tsekos I, Niell F X, Aguilera J, et al. Ultrastructure of the vegetative gametophytic cells of *Porphyra leucosticta* (Rhodophyta) grown in red, blue and green light[J]. Phycological Research, 2002, 50(4): 251-264.
- [15] López-Figueroa F, Niell F X. Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds[J]. Marine Biology, 1990, 104(2): 321-327.
- [16] Rüdiger W, López-Figueroa F. Photoreceptors in algae[J]. Photochemistry and Photobiology, 1992, 55(6): 949-954.
- [17] Godínez-Ortega J L, Snoeijs P, Robledo D, et al. Growth and pigment composition in the red alga *Halymenia floresii* cultured under different light qualities[J]. Journal of Applied Phycology, 2008, 20(3): 253-260.
- [18] Sutherland J E, Lindstrom S C, Nelson W A, et al. A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta)[J]. Journal of Phycology, 2011, 47(5): 1131-1151.
- [19] 严兴洪, 何亮华, 黄健, 等. 坛紫菜的细胞学观察[J]. 水产学报, 2008, 32(1): 131-137.
- Yan X H, He L H, Huang J, et al. Cytological studies on *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(1): 131-137(in Chinese).
- [20] 曾庆国, 刘必谦, 杨锐, 等. 坛紫菜单个体细胞克隆的丝状体途径[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 549-553.
- Zeng Q G, Liu B Q, Yang R, et al. Morphogeny of conchocelis thalli from single somatic cell clone cultivation of *Porphyra haitanensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(6): 549-553(in Chinese).
- [21] 严兴洪, 李琳, 陈俊华, 等. 坛紫菜的单性生殖与遗传纯系分离[J]. 高技术通讯, 2007, 17(2): 205-210.
- Yan X H, Li L, Chen J H, et al. Parthenogenesis and isolation of genetic pure strains in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. High Technology Letters, 2007, 17(2): 205-210(in Chinese).
- [22] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. The Japanese Journal of Phycology, 1984, 32: 333-347.
- [23] 严兴洪, 梁志强, 宋武林, 等. 坛紫菜人工色素突变体的诱变与分离[J]. 水产学报, 2005, 29(2): 166-172.
- Yan X H, Liang Z Q, Song W L, et al. Induction and isolation of artificial pigmentation mutants in *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(2): 166-172(in Chinese).
- [24] Porra R J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*[J]. Photosynthesis Research, 2002, 73: 149-156.
- [25] Parsons T R, Strickland J D H. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids[J]. Journal of Marine Research, 1963, 21: 155-163.
- [26] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae[J]. Marine and Freshwater Research, 1985, 36(6): 785-792.
- [27] Figueroa F L, Aguilera J, Jiménez C, et al. Growth, pigment synthesis and nitrogen assimilation in the red

- alga *Porphyra* sp. (Bangiales, Rhodophyta) under blue and red light[J]. *Scientia Marina*, 1995, 59: 9-20.
- [28] Jayasankar R, Kulandaivelu G. Influence of different wavelengths of light on photosynthesis and pigment constituents and absorption spectra of *Gracilaria* spp. [J]. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 2001, 16(4): 359-371.
- [29] 李映霞. 三种红藻光合作用色素系统的比较研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2007: 1-101.
Li Y X. Comparative study of pigmentary system of photosynthesis on three red algae[D]. Qingdao: University of Chinese Academy of Sciences (Institute of Oceanology), 2007: 1-101(in Chinese).
- [30] Wu L, Zhang G K, Lan S B, *et al.* Longitudinal photosynthetic gradient in crust lichens thalli[J]. *Microbial Ecology*, 2014, 67(4): 888-896.
- [31] Hannach G. Spectral light absorption by intact blades of *Porphyra abbottae* (Rhodophyta): effects of environmental factors in culture[J]. *Journal of Phycology*, 1989, 25(3): 522-529.
- [32] Gantt E. Pigmentation and photoacclimation[M]//Cole K H, Sheath R G. *Biology of the Red Algae*. Cambridge: Cambridge University Press, 1990: 203-219.
- [33] Carmona R, Vergara J J, Pérez-Lloréns J L, *et al.* Photosynthetic acclimation and biochemical responses of *Gelidium sesquipedale* cultured in chemostats under different qualities of light[J]. *Marine Biology*, 1996, 127(1): 25-34.
- [34] Münzner P, Voigt J. Blue light regulation of cell division in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Physiology*, 1992, 99(4): 1370-1375.
- [35] Zachleder V, Kuptsova E S, Los D A, *et al.* Division of chloroplast nucleoids and replication of chloroplast DNA during the cell cycle of *Dunaliella salina* grown under blue and red light[J]. *Protoplasma*, 1989, 150(2-3): 160-167.
- [36] Forster R M, Dring M J. Interactions of blue light and inorganic carbon supply in the control of light-saturated photosynthesis in brown algae[J]. *Plant, Cell & Environment*, 1992, 15(2): 241-247.
- [37] Charnofsky K, Towill L R, Sommerfeld M R. Light requirements for monospore germination in *Bangia atropurpurea* (Rhodophyta)[J]. *Journal of Phycology*, 1982, 18(3): 417-422.
- [38] Kolber Z, Zehr J, Falkowski P. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II [J]. *Plant Physiology*, 1988, 88(3): 923-929.
- [39] Lopez-Figueroa F, Niell F X. Red-light and blue-light photoreceptors controlling chlorophyll a synthesis in the red alga *Porphyra umbilicalis* and in the green alga *Ulva rigida*[J]. *Physiologia Plantarum*, 1989, 76(3): 391-397.
- [40] Drew K M. Conchocelis-phase in the life-history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz[J]. *Nature*, 1949, 164(4174): 748-749.
- [41] 王维波. 利用特征波长探讨大气和海洋中太阳辐射光谱特征的变化规律[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 1-122.
Wang W B. Exploring the variation of solar spectral characteristic in atmosphere and ocean using principal wavelength[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014: 1-122(in Chinese).

Effects of different LED light-qualities on growth, development and physiological characteristics of the unisexual thallus in *Pyropia haitanensis*

ZHONG Chenhui¹, HAN Junjun², TANG Longchen¹, HE Peimin², ZHANG Peng³, LIN Qi^{1*}

(1. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325000, China)

Abstract: In order to explore the optimum spectral components for growth and development of thallus of *Pyropia haitanensis*, the effects of different light qualities (white light, WL; blue light, BL; green light, GL; red light, RL) from light-emitting diode (LED) illuminations on the vegetative growth, developmental differentiation, maximal quantum efficiency of PS II photochemistry and photosynthetic pigment contents of female thalli were studied. Results showed that the average length and fresh weight of thalli under WL after 25 days culturing were 2.42-3.86 and 2.64-4.50 times higher than those of thalli cultured in monochromatic light qualities, respectively. The growth rate of thalli was fastest when cultured in polychromatic WL, while it was limited in the monochromatic lights (BL, GL and RL). RL and GL were significantly adverse for the synthesis of phycobiliproteins. Compared to WL, the phycoerythrin contents of thalli under RL and GL decreased by 44.1% and 43.2%, respectively, and the phycocyanin contents of thalli decreased by 11.6% and 12.5%, respectively. However, the phycoerythrin and phycocyanin contents of thalli under BL were increased by 94.3% and 16.2%, respectively, compared with that under WL, and the highest F_v/F_m values kept on a continuous uptrend through the whole culturing period suggested that thallus had long-term acclimation to BL. It was noteworthy that both GL and BL accelerated cell differentiation and rapidly motivated the parthenogenetic development in the apical parts of thalli, while WL and RL never had such effects. The pathway of parthenogenetic spores developing into normal parthenogenetic conchocelis were promoted by BL, but blocked by GL. All of the parthenogenetic spore germlings in GL overflowed their cell inclusions and finally hollowed and demised. These results indicated that monochromatic lights limited the vegetative growth of thalli, and significantly affected the photosynthetic pigment components and the maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) of PS II, yet BL was favourable for parthenogenetic development of unisexual thalli. It also provided a reference for the further studies on the light adaptation mechanism of the thallus in *P. haitanensis*.

Key words: *Pyropia haitanensis*; light quality; parthenogenesis; growth; photosynthetic pigment

Corresponding author: LIN Qi. E-mail: xmqlin@sina.com

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-50); Seed Industry Innovation and Industrialization Project of Fujian Province (2014S1477-10); Southern Oceanographic Center Project of Xiamen (15GZY021NF04); Scientific Research Program of Wenzhou (N20150016)