

光质对海带幼孢子体生长和假根发育的影响

汪文俊 孙修涛 王飞久* 王翔宇

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 以海带 *Laminaria japonica* 幼孢子体为材料, 比较了不同光质(白光、红光和蓝光)对其生长的影响, 并对假根的发育进行了研究。在为期 56 d 的培养期内, 蓝光始终促进幼孢子体的生长, 平均叶片大小为 $9\ 530 \pm 125\ \mu\text{m}$ 长/ $1\ 350 \pm 49\ \mu\text{m}$ 宽, 是对照白光组的 4 倍之多($2\ 200 \pm 56\ \mu\text{m}$ 长/ $356 \pm 20\ \mu\text{m}$ 宽); 而红光下, 藻体生长极为缓慢, 叶片大小仅为 $580 \pm 63\ \mu\text{m}$ 长/ $135 \pm 11\ \mu\text{m}$ 宽。但是三光质下, 藻体假根生长差异较小; 假根长/叶片长为红光下最大, 蓝光下最小, 三光质下该比值均随着培养时间的延长而下降。由于海带的主要捕光色素之一岩藻黄素的吸收峰位于蓝光区, 因此加大环境中蓝光的辐射可有效提高光能利用率, 从而提高实际光合效率, 加快藻体的生长; 而假根部由于结构和功能特性, 光合能力有所退化, 对光质差异不敏感, 因而在三光质下的生长相似。

关键词 海带 孢子体 假根 光质 蓝光

中图分类号 Q949.28 文献识别码 A 文章编号 1000-7075(2009)05-0113-06

Effect of light quality on young sporophyte growth and rhizoid development of *Laminaria japonica* Aresch

WANG Wen-jun SUN Xiu-tao WANG Fei-jiu* WANG Xiang-yu

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT Effects of light qualities (white light, red light and blue light) on the growth and rhizoid development of *Laminaria japonica* Aresch young sporophyte were investigated. During the culture period of 56 days, the young sporophyte cultured in blue light had a frond size of $9\ 530 \pm 125\ \mu\text{m}$ length/ $1\ 350 \pm 49\ \mu\text{m}$ width, about four-folds greater than that in white light; and the young sporophytes' growth was much delayed in red light, at a size of $580 \pm 63\ \mu\text{m}$ length/ $135 \pm 11\ \mu\text{m}$ width. However, the development of rhizoid showed little difference between different light qualities. The ratios of rhizoid length to frond length were the highest in red light and lowest in blue light, which all decreased as the cultures prolonged. Fucoxanthin, one of the major light harvesting pigments in *Laminaria* with absorption spectrum peaking in blue light region is highly effective in capturing blue light. Consequently, the more the blue light irradiance was provided, the more the light energy was captured, resulting in the higher

国家自然科学基金项目(30901095)、国家科技支撑计划项目(2006BAD01A13-10)、国家863计划项目(2006AA10A406)和黄海水产研究所基本科研业务费专项资金(2009-1s-04)共同资助

*通讯作者, E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85838673

收稿日期: 2009-01-18; 接受日期: 2009-03-09

作者简介: 汪文俊(1979-), 女, 博士, 主要从事藻类学研究, E-mail: wjwang@ysfri.ac.cn, Tel: 15096238219

photosynthetic rate. Because the rhizoid is differentiated from the *Laminaria* frond and possesses degraded photosynthetic capacity, it was less reactive to light qualities than the frond and showed similar development under the three lights.

KEY WORDS *Laminaria japonica* Aresch Sporophyte Rhizoid Llight quality Blue light

海带 *Laminaria* 为褐藻门, 海带目, 海带属藻类总称, 是最主要的大型经济海藻之一, 也是最早进行人工养殖的海藻品种, 其养殖规模和产量均位居养殖海藻首位(Tseng 2001, 汪文俊等 2005, 张全胜等 2006)。我国的主要栽培种为海带 *Laminaria japonica* Aresch。海带的价值主要体现在两个方面:(1)营养和药用价值, 海带富含多种维生素、微量元素和生理活性物质;(2)社会和生态价值, 海带是海岸带生态系统的重要组成部分, 作为我国近海养殖生态系统中重要的初级生产力, 每年吸收利用数千吨的温室气体 CO₂ 和富营养化元素 N 和 P(Fei 2004)。因此, 加强海带研究工作, 具有重要的社会、经济和生态意义。

野生海带主要生活在潮下带 1~10 m 水深的礁石上, 养殖海带也始终生长在 1~2 m 水深范围(曾呈奎等 1981)。海水对不同波长的光具有选择性衰减作用, 使得水面以下的光谱组成发生相应的变化(Dring 1981)。所有光质中以蓝光穿透海水的能力最强, 在海水环境中占有主导地位(Losi et al. 2008)。研究表明, 短暂低强度的蓝光刺激可提高掌状海带和糖海带孢子体的光合放氧速率(Dring 1989), 这是褐藻类所特有的一种蓝光反应(Forster et al. 1994), 与碳吸收过程相偶联, 当培养体系中 CO₂ 浓度接近或高于自然海水时, 该效应被大大削弱(Forster et al. 1992; Schmid et al. 1993a; Klenell et al. 2002)。海带养殖过程可分为室内育苗和海上养成两个阶段。室内培育海带幼孢子体, 密度适中, 且使用循环海水系统, 海水的更换频率高, 育苗过程中, CO₂ 浓度不会发生明显变化, 即不会出现 CO₂ 不足问题, 在这种情况下, 若用蓝光培养, 对孢子体的生长会不会有促进作用?

海带孢子体由固着器、柄和叶片 3 部分组成。固着器位于柄的基部, 由许多自柄基部生出的圆柱形假根组成, 吸附于岩石或养殖绳上以固着藻体, 虽然在整个藻体中所占的体积较小, 却具有重要的地位。在海带孢子体生活阶段, 假根的生长状况对藻体的附着生长意义重大。光质对植物假根的分化和生长起着调控作用, 如红光可促进绿藻水绵假根的形成(Nagata 1973)和香蕉菜假根的生长(Ishizawa et al. 1979), 而蓝光可诱导香蕉菜和薛羽藻假根的负向光性(Ishizawa et al. 1979, Iseki et al. 1995)。那么光质对海带假根的分化和生长有无影响?

针对以上两点疑问, 本文以海带为材料, 研究了不同光质(红和蓝光)对其幼孢子体生长和假根发育的影响, 以期在实践工作中提高海带育苗的效率。

1 材料与方法

种海带于 2008 年 9 月采自福建官坞, 采苗方法参照(王素娟 1994), 游孢子采集到载玻片上, 置于 GXZ 智能型光照培养箱(宁波)中培养。游孢子培养条件为:白色日光灯, 光强 30 μmol/m²·s, 光周期(光照: 黑暗)10 h:14 h, 温度 10 ℃, 培养基为消毒海水(1×10^{-3} mol/L KNO₃, 1×10^{-4} mol/L KH₂PO₄)。

培养 12 d 后, 将附着有幼孢子体的玻片转移到不同光质下进行培养。蓝光、红光和白光由 LED 灯提供, 参数为蓝光波长 460~475 nm, 红光波长 620~635 nm, 白光色温 5 000~7 000 K。培养条件: 光强 40 μmol/m²·s, 光周期 10 h:14 h, 培养基为消毒海水(1×10^{-3} mol/L KNO₃, 1×10^{-4} mol/L KH₂PO₄), 每隔 1 d 更换 1 次, 每隔 7 d 统计 1 次幼孢子体的大小(长度和宽度), 并采用 Nikon E800 显微镜(Japan)拍照记录。数据分析和 T-test 采用 Excel 软件。

2 结果

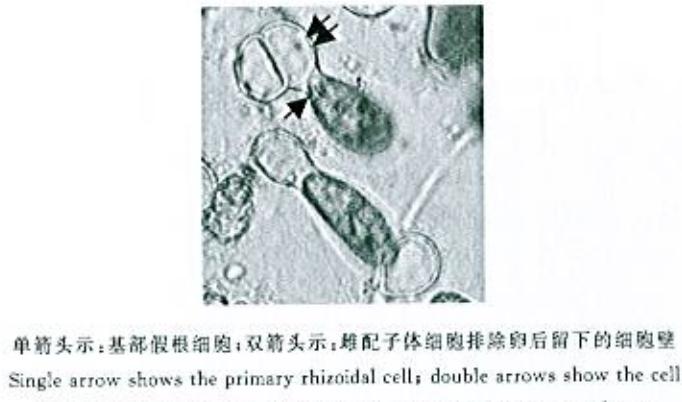
2.1 光质对海带幼孢子体生长的影响

游孢子采集后,在白色日光灯下培养12 d后,雌配子体排卵受精发育为2~4细胞的幼孢子体(图1)。在随后为期56 d的培养期内,光质对孢子体生长的影响特别明显,蓝光条件培养的藻体最大(图2b和图3b),白光居中(图2a和图3a),红光最小(图2c和图3c)。藻体叶片平均长度和宽度列于表1中,彼此之间呈显著性差异($P < 0.01$)。

虽然红光下藻体的生长有所延迟,但是叶片上细胞坏死的现象较少(图4a),与蓝光下的藻体几乎没有差别,细胞颜色正常;而白光下的藻体叶片上则出现很多点状(图4b)甚至大面积的细胞分解死亡症状(图4c)。

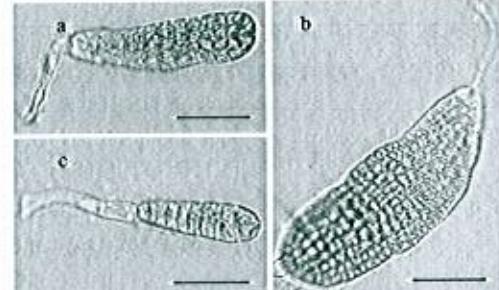
2.2 海带幼孢子体假根的发育以及光质的影响

游孢子采集并培养12 d后,雌配子体排卵受精发育为2~4细胞的幼孢子体,基部细胞分化为初级假根细胞,紧邻基部为一大空壳,如图1所示,该结构为雌配子体细胞排出细胞内容物(卵)后留下的细胞壁。随着培养时间的延长,自基部细胞生出细长的管状假根(图2)。



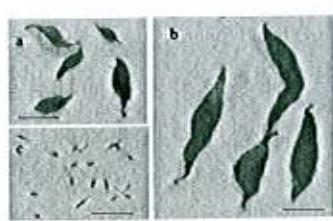
单箭头示:基部假根细胞;双箭头示:雌配子体细胞排除卵后留下的细胞壁
Single arrow shows the primary rhizoidal cell; double arrows show the cell wall remnants after eggs being released by the female gametophytes

图1 海带2~4细胞的幼孢子体
Fig. 1 Young *Laminaria japonica* sporophyte of 2-4 cells



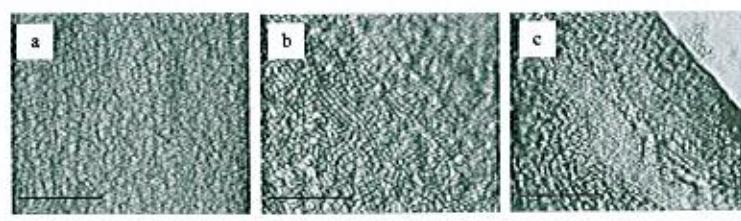
a-白光;b-蓝光;c-红光
Scale bar=50 μm. a-white light; b-blue light; c-red light

图2 幼孢子体转到不同光质下培养7 d后的生长状况
Fig. 2 Growth of the young sporophyte cultured in white, blue and red light for 7 days



Scale bar = 2 mm. a-white light; b-blue light; c-red light
图3 幼孢子体转到不同光质下培养56 d后的生长状况

Fig. 3 Growth of the young sporophyte cultured in white, blue and red light for 56 days



Scale bar=100 μm. a-blue / red light; b, c-white light.
图4 幼孢子体在不同光质下培养56 d后的藻体

Fig. 4 *Laminaria japonica* fronds cultured in white, blue and red light for 56 days

表1 不同光质下培养56 d后,幼孢子体的大小。

Table 1 Size of the young sporophytes after cultured in white, blue and red light for 56 days, WL-white light, BL-blue light, RL-red light.

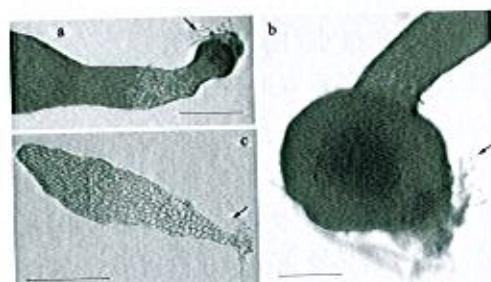
光质 Light quality	幼孢子体长(μm) Sporophyte length (μm)	幼孢子体宽(μm) Sporophyte width (μm)
白光 White light	2 200±56	356±20
蓝光 Blue light	9 530±125	1 350±49
红光 Red light	580±63	135±11

用不同光质培养7 d后,假根的长度没有明显的差别(表2)($P>0.05$)。56 d后,白光和蓝光下培养的藻体已形成明显的柄部(图5a,b),而红光下藻体始终生长缓慢,柄、生长点和叶片部位分化不明显,但假根却相对发达(图5c),其平均长度比白光和蓝光下的略小(表2)。培养至7 d以及56 d的统计结果均显示红光下假根长/叶片长最大,蓝光最小,三光质间假根与叶片长度的比值呈显著性差异($P<0.01$);且随着培养时间的延长,藻体逐渐长大,各光质下假根与叶片的比值均呈下降趋势(图6)。

表2 不同光质下藻体假根的长度(μm)

Table 2 Length of *Laminaria japonica* rhizoid under different light qualities (μm)

光质 Light quality	7 d	56 d
白光 White light	45.00 ± 2.80	198.00 ± 2.08
蓝光 Blue light	47.20 ± 3.25	197.60 ± 2.59
红光 Red light	46.75 ± 2.63	156.6 ± 3.11



a-白光; b-蓝光; c-红光

Scale bar=200 μm. a-white light; b-blue light; c-red light

图5 幼孢子体转到不同光质下培养56 d后,假根生长状况
Fig. 5 Growth of rhizoids cultured in white, blue and red light for 56 days

3 讨论

蓝光是海水环境中主要的光谱组成部分,对海洋植物的生命活动起着重要的调控作用(Losi *et al.*, 2007)。研究报道在饱和红光的基础上,实施短时的低强度蓝光辐射可促使海带孢子体的光合放氧速率得到瞬间增强,最大增幅约为两倍,而当低于饱和光强或体系中CO₂浓度接近或高于自然海水时,这种蓝光效应不明显(Dring 1989, Forster *et al.*, 1992; Schmid *et al.*, 1996; Schmid *et al.*, 1996),因而推断蓝光刺激促进了藻体细胞对无机碳的吸收进而对光合放氧速率产生影响,而这一系列反应是由蓝光受体介导的光形态建成反应(Schmid *et al.*, 1993a, b; Klenell *et al.*, 2002, 2004)。在本研究中,蓝光下藻体的生长速度始终高于白光,56 d后,蓝光下藻体的大小为白光下的4倍多(表1)。由于实验过程中海水更换频率高、藻体密度低,CO₂浓度维持在自然海水的饱和状态,因此蓝光对无机碳吸收的调节效应不明显。

研究发现蓝光下,红藻藻体的生长速率较白光和红光条件的低,无机碳吸收同化能力和光能吸收效率都明显下降,从而导致实际光合效率下降(Aguilera *et al.*, 2000; Figueroa *et al.*, 1995; Korbee *et al.*, 2005)。因此,作者推测蓝光除了作为光信号作用于蓝光受体而调节海带孢子体的无机碳吸收外,还作为能量来源直接影响光能吸收和传递过程。除叶绿素a外,海带等褐藻的主要捕光色素为岩藻黄素(刘洪艳等 2004a, b),其含量十分丰富,据报道1 g(湿重)成熟海带假根中岩藻黄素的含量达122 μg(Wang *et al.*, 2005),而藻体其他部位的含量更高(Seely *et al.*, 1972)。岩藻黄素的吸收峰恰位于蓝光区(Wang *et al.*, 2005),可高效吸收利用蓝光。因此,当环境中蓝光辐射的比例增加时,光能吸收和传递效率亦将提高。

2~4细胞的幼孢子体培养56 d后,红光下藻体叶片的大小只有蓝光下的1/16,而假根的长度为蓝光下的

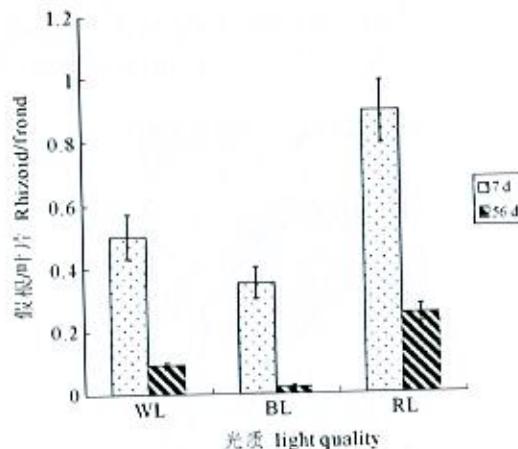


图6 不同光质下,海带幼孢子体假根与叶片长度的比值

Fig. 6 The ratios of rhizoid to frond of *Laminaria japonica* young sporophyte cultured in white (WL), blue (BL) and red light (RL)

4/5, 可见光质对海带孢子体不同部位的调节作用亦不同。海带孢子体纵向可分为固着器、柄和叶片3部分, 横向可分为边缘部和中带部, 切向则由表皮、外皮层、内皮层以及髓部组成; 依据细胞的年龄, 生长点部位最为年轻, 生长点往外细胞年龄依次递增, 可见海带孢子体具有较为复杂的结构和功能分化。不同组织的生长代谢特性不同, 对外界刺激的响应也势必不同。海带假根细胞的分化非常明显, 具有很多区别于叶片的特性, 如含有较高的K⁺浓度和K⁺/Na⁺比(Funaki *et al.* 2001); 具有更强的Cd²⁺吸收能力(Markham *et al.* 1980); 并含有一种具抗肿瘤活性的GA-岩藻依聚糖(Tomohiro *et al.* 2006)等。假根不具有色素母细胞(Harold *et al.* 1910), 光合色素的含量很低(Wang *et al.* 2005), 且其主要功能为固着作用, 这些结构和功能上的特性决定了海带假根相对较弱的光合能力。而蓝光促进和红光延迟海带孢子体生长的一个主要因素是对光合作用的调节, 因而假根对光质刺激的响应不如叶片明显。

在孢子体生活阶段, 假根的生长状况对藻体的附着生活影响较大。受精卵第1次分裂, 即分化出初级假根细胞。3种光质下, 假根与叶片的长度之比都随着培养时间的延长而明显下降(图6), 而成熟海带假根的长度(约为3~4 cm)仅为叶片长度的1%~2%。可见, 海带假根的生长发生于孢子体生长早期, 这种特性对营固着生活非常重要, 只有孢子体尽快分化出发达的假根, 才能附着牢固, 使植株不至在风浪和水流等外力的冲击下脱离基质。

海带养殖过程包括室内育苗和海上养成两个阶段。与白光相比, 幼孢子体在蓝光或红光下较不易发生病害, 且对海带假根的分化和生长没有延迟作用, 即便在长期红光辐射下, 假根的长度虽略小于白光和蓝光, 但与叶片的比值却最大, 即假根的实际附着功能并没有受到影响。因此, 在室内育苗期间, 可根据需要采用蓝光或红光来推动或延迟小苗的生长, 以在出库时获得大小适宜且健康的幼孢子体。随着水深的增加较长波长和较短波长的光均被大量吸收, 而蓝光的透过率很高。利用蓝光可显著促进海带生长的这一特性, 在海上养成阶段, 可适当加深海带孢子体生活的水层, 从而拓展养殖海藻在海区的垂直利用空间。

参 考 文 献

- 刘洪艳, 王广策, 侯和胜, 曾呈奎. 2004a. 帽带菜 *Undaria pinnatifida* 色素蛋白复合物的分离及光谱特性的初步研究. 海洋与湖沼, 35(3): 284~288.
- 刘洪艳, 王广策, 侯和胜. 2004b. 帽带菜PSI复合物的荧光特异性和植物学通报, 21(4): 444~448.
- 汪文俊, 王广策, 张宝玉, 蒋本禹, 曾呈奎. 2005. 海带栽培品系和长海带ITS区的扩增及序列分析. 高技术通讯, 15(4): 95~101.
- 王素娟. 1994. 海藻生物技术. 上海: 上海科学技术出版社, 104~110.
- 曾呈奎, 潘忠正, 周百成. 1981. 底栖海藻比较光合作用研究II. 潮间带褐藻光合作用与光强的关系. 海洋与湖沼, 12(3): 254~258.
- 张全桂, 丛义周, 曲善村, 罗世菊. 2006. 海带良种化生产的研究现状与展望. 水产科学, 25(8): 421~427.
- Aguilera, J., Gordillo, F. J. L., Karsten, U., Figueroa, F. L., and Niell, F. X. 2000. Light quality effect on photosynthesis and efficiency of carbon assimilation in the red alga *Porphyra leucosticta*. Journal of Plant Physiology, 157: 86~92.
- Dring, M. J. 1981. Chromatic adaptation of photosynthesis in benthic marine algae: An examination of its ecological significance using a theoretical model. Limnology Oceanography, 26: 271~284.
- Dring, M. J. 1989. Stimulation of light-saturated photosynthesis in *Laminaria* (Phaeophyta) by blue light. Journal of Phycology, 25: 254~258.
- Fei, X. G. 2004. Solving the coastal eutrophication problem by large scale seaweed cultivation. Hydrobiologia, 512: 145~151.
- Figueroa, F. L., Aguilera, J., and Niell, F. X. 1995. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta). European Journal of Phycology, 30: 11~18.
- Forster, R. M., and Dring, M. J. 1992. Interaction of blue light and inorganic carbon supply in the control of light-saturated photosynthesis in brown algae. Plant Cell Environment, 15: 241~247.
- Forster, R. M., and Dring, M. J. 1994. Influence of blue light on the photosynthetic capacity of marine plants from different taxonomic, ecological and morphological groups. European Journal of Phycology, 29: 21~27.
- Funaki, M., Nishizawa, M., Sawaya, T., Inoue, S., and Yamagishi, T. 2001. Mineral composition in the holdfast of three brown algae of the genus *Laminaria*. Fisheries Science, 67: 295~300.
- Harold, G., and Drew, B. A. 1910. The reproduction and early development of *Laminaria digitata* and *Laminaria saccharina*. Annals of Botany, 24: 177~190.
- Iseki, M., Mizukami, M., and Wada, S. 1995. Negative phototropism in the rhizoid of *Bryopsis plumosa*. Plant and Cell Physiology, 36: 977~

- 982
 Ishizawa, K., and Wada, S. 1979. Growth and phototropic bending in *Boergesenia* rhizoid. Plant and Cell Physiology, 20: 973~982
 Klenell, M., Snoeijs, P., and Pedersen, M. 2002. The involvement of a plasma membrane H⁺-ATPase in the blue-light enhancement of photosynthesis in *Laminaria digitata* (Phaeophyta). Journal of Phycology, 38: 1143~1149
 Klenell, M., Snoeijs, P., and Pedersen, M. 2004. Active carbon uptake in *Laminaria digitata* and *L. saccharina* (Phaeophyta) is driven by a proton pump in the plasma membrane. Hydrobiologia, 514: 41~53
 Korbee, N., Figueira, F. L., and Aguilera, J. 2005. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology, 80: 71~78
 Losi, A., and Gartner, W. 2008. Shedding (blue) light on algal gene expression. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 105: 7~8
 Markham, J. W., Kremer, B. P., and Sperling, K. R. 1980. Effects of cadmium on *Laminaria saccharina* in culture. Marine Ecology, 3: 31~39
 Nagata, Y. 1973. Rhizoid differentiation in *Spirogyra* II. Photoreversibility of rhizoid induction by red and far-red light. Plant and Cell Physiology, 14: 543~554
 Schmid, R., and Dring, M. J. 1993. Evidence for two different blue-light-receptor systems for the fast responses of stimulation of photosynthetic capacity and acidification of the plant surface in brown algae. Planta, 191: 489~495
 Schmid, R., and Dring, M. J. 1996. Blue light and carbon acquisition in brown algae: an overview and recent development. Scientia Marina, 60 (Supl.): 115~124
 Schmid, R., Mills, J. A., and Dring, M. J. 1996. Influence of carbon supply on the stimulation of light-saturated photosynthesis by blue light in *Laminaria saccharina*: implications for the mechanism of carbon acquisition in higher brown algae. Plant Cell Environment, 19: 383~391
 Seely, G. R., Duncan, M. J., and Vidaver, W. E. 1972. Preparative and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide. Marine Biology, 12: 184~188
 Tomohiro, O., Jynji, Y., Takashi, Y., Noriyuki, Y., and Makoto, N. 2006. Two fucoidans in the holdfast of cultivated *Laminaria japonica*. Journal of Natural Medicines, 60 (3): 236~239
 Tseng, C. K. 2001. Algal biotechnology industries and research activities in China. Journal of Applied Phycology, 13: 375~380
 Wang, W. J., Wang, G. C., Zhang, M., and Tseng, C. K. 2005. Isolation of Fucoxanthin from the Rhizoid of *Laminaria japonica* Aresch. Journal of Integrative Plant Biology, 47: 1009~1015