

条斑紫菜不同品系藻体光合色素 及叶绿素荧光参数比较

姚春燕¹, 张 涛², 姜红霞², 朱建一², 陆勤勤³, 杨家新¹, 许 璞²

(1 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210097) (2 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500)

(3 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007)

[摘要] 比较了 10 个品系的条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 藻体色素吸收光谱及在不同生长光强下的有效光化学效率 (Yield)。光谱测定结果显示, 不同品系藻体吸收光谱基本一致, 但峰值有所差异。试验品系中, 杂交重组品系 Y-H001 的 PE、PC 和 APC 含量显著高于对照种质 Y-W0401, 分别高出 41.4%、38.3% 和 43.2%; 绿色突变体 Y-gr01 的 3 种藻胆蛋白含量及 PE/PC 显著低于对照, 但 Chl a 含量较 Y-W0401 高出 28.2%; 杂交重组品系 H-Yy0502 的 PE/Chl a、PC/Chl a 和 APC/Chl a 显著高于 Y-W0401。有效光化学效率测定结果表明, 在不同的光强条件下, 选育品系 Y-J0201 和诱变实验品系 CM0305 的 Yield 显著高于 Y-W0401, 而 Y-gr01 的 Yield 显著低于对照。本文对条斑紫菜不同品系藻体的光谱特性、色素组成及 Yield 进行了比较与分析。

[关键词] 紫菜, 品系, 光合色素, 叶绿素荧光

[中图分类号] Q945.79 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2010)02-0081-06

Comparison of Photosynthetic Pigments and Chlorophyll Fluorescence Parameters of Different Strains of *Porphyra yezoensis*

Yao Chunyan¹, Zhang Tao², Jiang Hongxia², Zhu Jianyi², Lu Qinqin³, Yang Jiaxin¹, Xu Pu²

(1 School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

(2 Department of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China)

(3 Jiangsu Institute of Marine Fisheries, Nantong 226007, China)

Abstract Absorption spectra of 10 strains of *Porphyra yezoensis* thalli and the effective photochemical efficiency (Yield) of those thalli grown under different light intensities were compared. Absorption spectra of different strains showed similar patterns. The contents of phycoerythrin (PE), phycocyanin (PC) and allophycocyanin (APC) in the hybrid recombinant strain Y-H001 were 41.4%, 38.3% and 43.2% higher than those in Y-W0401 (the control), respectively. The contents of PE, PC, APC and the ratio of PE/PC in the green mutant strain Y-gr01 were lower than those in Y-W0401, but the content of chlorophyll a (Chl a) was 28.2% higher. The ratios of PE/Chl a, PC/Chl a and APC/Chl a of the hybrid recombinant strain H-Yy0502 were higher than those of Y-W0401. Yield of the breeding strain Y-J0201 and mutagenic CM0305 under all light intensities were significantly higher than that of Y-W0401, while Yield of Y-gr01 was remarkably lower than it. In this report, absorption spectra of 10 strains of *P. yezoensis* thalli, composition of pigments and Yield were compared and discussed.

Key words *Porphyra*, strain, pigment, Chlorophyll fluorescence

紫菜属 (*Porphyra*) 是一类原始红藻, 其生活史由宏观的叶状体阶段和微观的丝状体阶段循环完成^[1]。作为低等原始红藻的特点是缺少 Chl b, 仅含有 Chl a, 但其光合色素系统却有重要的捕光色素蛋白—藻胆蛋白。按光谱性质, 藻胆蛋白可分为藻红蛋白 (Phycoerythrin, PE)、藻蓝蛋白 (Phycocyanin, PC) 和别藻蓝蛋白 (Allophycocyanin, APC)^[2]。紫菜藻体颜色主要由 PE、PC 和 Chl a 含量及它们之间比值所决定, 商品紫菜质

收稿日期: 2009-06-12

基金项目: “十一五”国家 863 计划 (2006AA10A413)。

通讯联系人: 许 璞, 理学博士, 研究员, 研究方向: 藻类生物学。E-mail: xupu66@sina.com

量也主要取决于这些色素含量的高低^[3]。

紫菜藻体生物量的积累与光合作用等生理过程密切相关。调制叶绿素荧光 (PAM) 是光合作用测量的重要技术, 其原理是利用植物自身激发的荧光作为天然探针, 显示光合作用的各项生理参数, 具有快速、灵敏及对样品无损伤的特点。叶绿素荧光技术在测定植物光系统对光能的吸收、分配、耗散等方面具有独特的作用, 已成为研究光照^[4]、温度^[5-6]、水分^[7] 等环境条件对植物光合作用影响的重要工具。

紫菜是重要的经济海藻, 其中条斑紫菜在全世界藻类生产中占有极为重要的比重, 也是我国长江以北区域的主要栽培海藻。目前, 关于紫菜育种性状的研究主要是关于形态或生长特征等方面的描述, 定量性状的研究报道甚少。本文测定分析了条斑紫菜各品系藻体的光合色素与有效光化学效率, 旨在比较不同品系的光合作用特点, 为育种研究提供基础性资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

试验品系由江苏省有关科研机构提供 (表 1)。

表 1 试验品系概况
Table 1 Survey of the testing strains

试验品系	概况	育种研究单位
Y-W 0401 (对照)	原产地 (青岛) F ₂ 代保存种质	江苏省海洋水产研究所国家级紫菜种质库
Y-H001	远缘杂交重组 F ₂ 代品系, 主要显示条斑紫菜特性	常熟理工学院海藻遗传与种质创新实验室
Y-L0601	高光胁迫筛选品系	常熟理工学院海藻遗传与种质创新实验室
Y-J0201	江苏南通紫菜主产区选育品系	江苏省海洋水产研究所国家级紫菜种质库
Y-gr01	绿色突变体保存种质	江苏省海洋水产研究所国家级紫菜种质库
Y-06D0	实验室培养系统选育品系	常熟理工学院海藻遗传与种质创新实验室
Y-9970	江苏连云港主产区选育品系	江苏省海洋水产研究所国家级紫菜种质库
Y-H _y 0503	远缘杂交重组 F ₁ 代品系, 主要显示条斑紫菜特性	常熟理工学院海藻遗传与种质创新实验室
H-Y _y 0502	远缘杂交重组 F ₁ 代品系, 主要显示条斑紫菜特性	常熟理工学院海藻遗传与种质创新实验室
CM0305	诱变保存材料	江苏省海洋水产研究所国家级紫菜种质库

测试材料于 2009 年 3 月 1 日采自江苏南通条斑紫菜主产区试验栽培网, 2 h 内带回实验室, 挑选健康完整藻株进行预培养, 黑暗沉淀海水, 15℃, 50 μmol/(m²·s)。

1.2 实验方法

1.2.1 光合色素测定

取经 1~2 d 预培养的各品系藻体, 用滤纸吸干表面水分, 精确称取 0.1 g 研磨后加入 20 mL 磷酸缓冲液 (pH 6.8) 或 80% 丙酮, 室温黑暗条件下静置 12 h 提取藻胆蛋白或叶绿素, 离心取上清, 测定 400~750 nm 区间的吸收光谱 (UV/VIS 分光光度计, Lambda 25, PerkinElmer)。每份材料重复测定 3 次。

根据 Bennet 和 Bogorad (1973)^[8] 方法, 计算 PC、APC、PE 含量, 公式如下:

$$\begin{aligned}C_{PC}(\text{mg/mL}) &= (A_{620} - 0.7 \times A_{650}) / 7.38 \\C_{APC}(\text{mg/mL}) &= (A_{650} - 0.19 \times A_{620}) / 5.65 \\C_{PE}(\text{mg/mL}) &= (A_{540} - 2.8 \times C_{PC} - 1.34 \times C_{APC}) / 12.7\end{aligned}$$

Chla 含量按 Wellbum (1994)^[9] 方法计算:

$$C_{Chla}(\mu\text{g/mL}) = 12.1 \times A_{663} - 2.81 \times A_{646}$$

1.2.2 PSII 有效光化学效率测定

实验条件: 样品预培养 1~2 d 测试培养采用 5 mL 玻璃试管, 每份试样 1 片 1×2 cm 藻体切段。设置 40 μmol/(m²·s)、78 μmol/(m²·s) 和 156 μmol/(m²·s) 3 个实验光照梯度, 15±0.5℃。培养系统为 GX-250BS-III 光照培养箱, 光强测定使用 LF-185B 照度计。

样品 Yield 由调制荧光仪 (Water-PAM, Walz Effelrich, Germany) 测定, 2 h 1 次, 测量时将光纤探头垂直置于藻体表面, 测得参数代入以下方程计算求得:

$$\text{Yield} = \Delta F / Fm' = (Fm' - F_t) / Fm'$$

F_t 是使用 0.3 μmol/(m²·s) 的调制红光和 64 μmol/(m²·s) 的活化光, 测得样品的当前稳态荧光值。

Fm' 是达到稳态时再施加 $0.8 \pm 4\,000\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的饱和脉冲, 测得样品的最大荧光值。

1.3 统计分析

实验设置 3 个重复, 试验数据表示为平均值 \pm 标准差 ($n = 3$), 各品系测试数据与对照试样 Y-W 0401 进行比较, 差异性采用 t 检验, $P < 0.05$ 为显著水平, $P < 0.01$ 为极显著水平。

2 结果

2.1 不同品系藻体光谱特性

10 个品系藻体的磷酸缓冲液提取液吸收光谱都呈现 6 个吸收峰, 分别位于 415(416) nm、437(436) nm、496(495) nm、564 nm、615 nm 和 677 nm。Y-H 001 吸收峰值明显高于对照种质 Y-W 0401, Y-J0201、CM 0305 和 H-Y y0502 的 $1\lambda_{\text{max}}$ 和 $2\lambda_{\text{max}}$ 2 吸收峰略高, 其余品系吸收峰值与对照相近, 但 Y-gr01 峰值显示较低(图 1a)。不同品系藻体的丙酮提取液吸收光谱均存在 3 个明显吸收峰, 分别位于 433(432) nm、478(477) nm 和 665(664) nm。Y-gr01 峰值较高, Y-H y0503 和 Y-H 001 峰值与对照相近, 其余品系吸收峰值都较低。

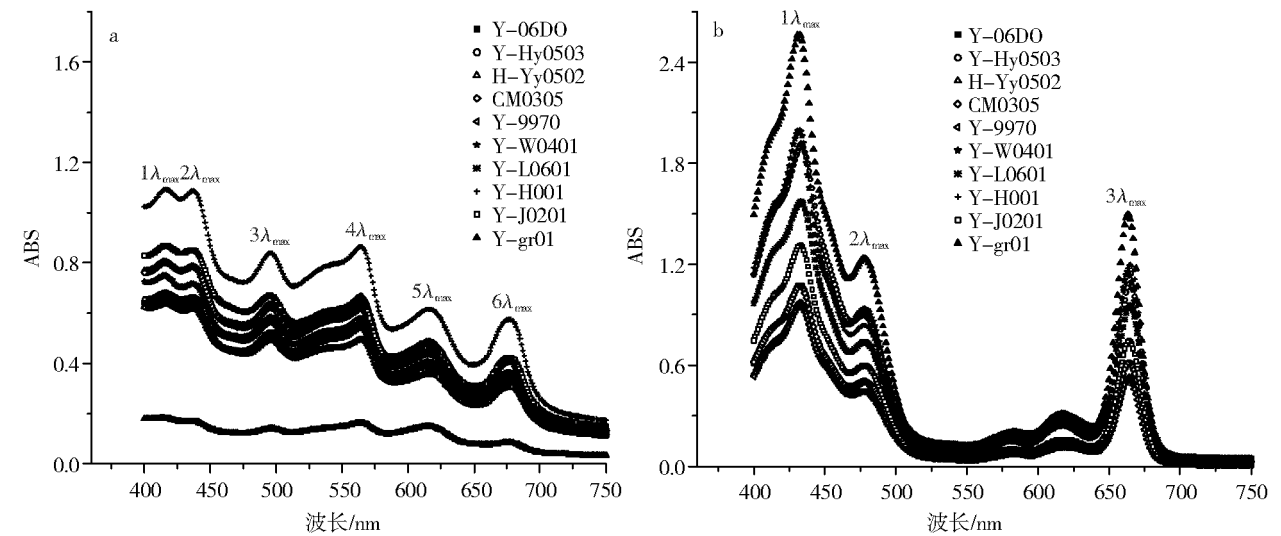


图 1 各品系藻体藻胆蛋白 (a) 和叶绿素 (b) 吸收光谱
Fig 1 The absorption spectra (ABS) of Phycobiliprotein (a) and chlorophyll (b) of different strains

2.2 不同品系藻体色素含量

不同品系藻体 PE、PC、APC 和 Chla 含量存在差异(图 2), Y-H 001 藻胆蛋白含量显著高于对照试样 ($P < 0.05$), 分别高出 41.4%、38.3% 和 43.2%, Y-gr01 含量很低 ($P < 0.05$), 其它品系与对照的差异不明显 ($P > 0.05$)(图 2a、b、c)。试验品系中, Y-gr01 的 Chla 较对照试样高出 28.2% ($P < 0.05$), Y-H 001、Y-L0601 和 CM 0305 的 Chla 含量与对照没有显著差异 ($P > 0.05$), 其它品系低于对照 ($P < 0.05$)(图 2d)。

2.3 不同品系藻体光合色素比值

由表 2 可以看出, Y-gr01 的 PE/PC 显著低于对照试样 ($P < 0.05$), 而 PC/APC 为显著高值 ($P < 0.05$), 其它 8 个品系与 Y-W 0401 无显著差异 ($P > 0.05$); H-Y y0502 的 PE/Chla、PC/Chla 和 APC/Chla 显著高于对照 ($P < 0.05$), 而 Y-gr01 的相应比值显著低于对照 ($P < 0.05$)。

2.4 不同品系藻体 Yield 日变化

在测试实验的 3 个光强水平下, 不同品系藻体 Yield 随样品受光时间呈下降趋势, 但品系间表现出差异。统计分析显示: $40\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下, Y-J0201、Y-06D0 和 CM 0305 品系的 Yield 高于对照试样(图 3a), Y-9970、Y-H y0503、H-Y y0502、Y-L0601 和 Y-H 001 与对照较为接近(图 3b), 而 Y-gr01 表现显著低值 ($P < 0.05$)(图 3c); $78\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下, Y-J0201、Y-9970 和 CM 0305 品系 Yield 显著高于对照 ($P < 0.05$)(图 4a), H-Y y0502、Y-H 001、Y-H y0503 和 Y-06D0 品系 Yield 与对照相似(图 4b), 其余 2 品系 Yield 与对照差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)(图 4c); $156\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下, Y-J0201、Y-9970、H-Y y0502、Y-

H_y0503、Y-H 001、Y-06D0 和 CM 0305 品系 Y_{ield} 都高于对照 ($P < 0.05$) (图 5a), Y-L0601 与对照较为接近 (图 5b), Y-gr01 的 Y_{ield} 显著低于对照 ($P < 0.05$) (图 5c).

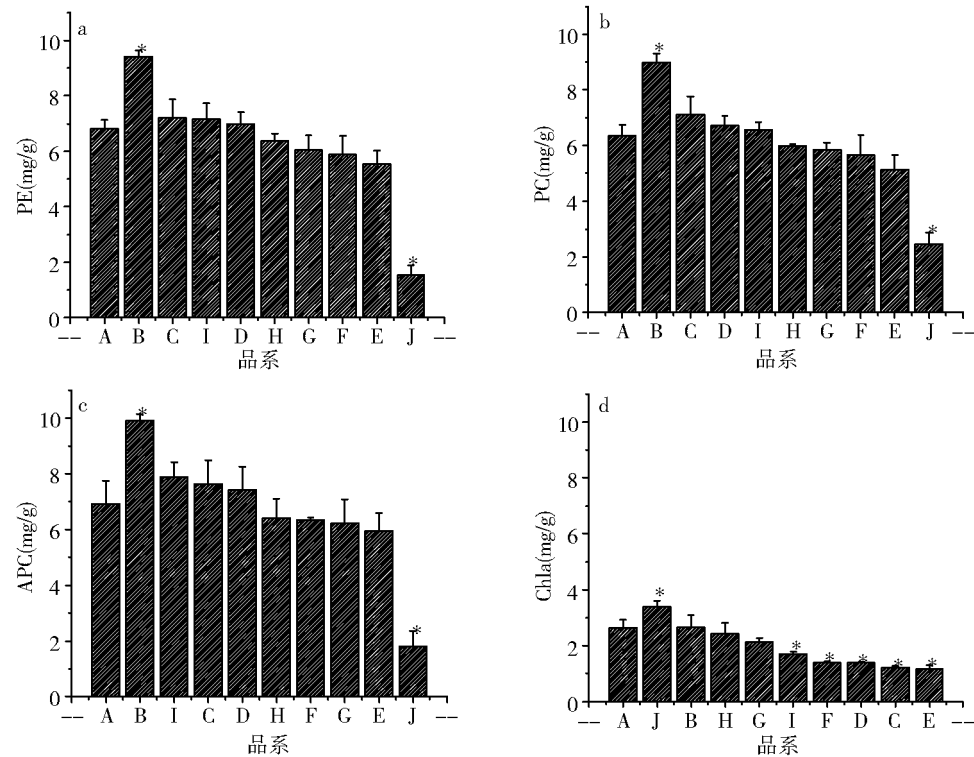


图 2 各品系藻体 PE (a)、PC (b)、APC (c)和 Chla (d)含量

Fig 2 The contents of PE (a), PC (b), APC (c) and Chla (d) in different strains
注: A. Y-W 0401, B. Y-H 001, C. H-Y_y0502, D. CM 0305, E. Y-9970, F. Y-06D0, G. Y-L0601, H. Y-H_y0503, I. Y-J0201, J. Y-gr01;
* 表示与对照种质 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.05$

表 2 不同品系藻体光合色素比值
Table 2 The ratios of photosynthetic pigments of different strains

M aterial	PE/PC ratio	PC/APC ratio	PE /Chla ratio	PC /Chla ratio	APC /Chla ratio
Y-W 0401	1.10±0.09	0.91±0.05	2.75±0.94	2.59±1.00	2.81±1.02
Y-H001	1.07±0.08	0.90±0.07	3.55±0.23	3.34±0.24	3.37±0.21
Y-L0601	1.02±0.05	1.00±0.17	2.79±0.57	2.71±0.43	2.86±0.82
Y-J0201	1.09±0.08	0.84±0.07	4.24±0.45	3.89±0.39	4.66±0.37
Y-gr01	0.63±0.11*	1.47±0.39*	0.45±0.10*	0.72±0.10*	0.53±0.15*
Y-06D0	1.05±0.05	1.06±0.05	4.25±1.30	4.09±0.31	4.58±1.63
Y-9970	1.08±0.04	0.86±0.01	4.73±0.95	4.41±0.99	5.12±1.19
Y-H _y 0503	1.06±0.05	0.93±0.07	2.76±0.78	2.57±0.63	2.77±0.83
H-Y _y 0502	1.01±0.01	0.94±0.03	6.08±0.99*	6.01±0.99*	6.45±1.16*
CM0305	1.04±0.05	0.91±0.07	5.05±0.70	4.85±0.60	5.38±0.95

注: * 表示与对照种质 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.05$.

3 讨论

紫藻藻体细胞色素含量及其比值不同, 其外观颜色也表现出差别, 干紫菜和烤紫菜产品的颜色是由各种色素反射光形成的混合色, 其主要取决于 PE、PC 和 Chla 含量的高低及其它们之间的比值^[3]. 不同生长期的紫菜色素含量有所差异, 一般呈前高后低的趋势^[10]. Yan 等 (2002) 报道了条斑紫菜 3 种色素突变体的不同表型颜色是 PE 和 PC 的质或量发生了变化. 本试验比较了同一生长时期的 10 个品系条斑紫菜藻体离体色素的吸收光谱, 发现各品系藻体吸收光谱基本一致, 但峰值呈现差别 (图 1). 由此可知, 不同品系的紫藻藻体所含色素是相同的, 差别主要表现在含量的高低. 试验品系中, 远缘杂交重组品系 Y-H001 3 种

藻胆蛋白的含量均显著高于对照种质 Y-W 0401, 而绿色突变体 Y-gr01 的藻胆蛋白显著低于对照, 但其 Chla 含量显示较高, 高出对照 28. 2%. 主要光合色素比值也显示各品系的特性, 远缘杂交重组品系 H-Yy0502 的 PE/Chla 和 PC/Chla 显著高于对照种质 Y-W 0401, 而绿色突变体 Y-gr01 的 PE/PC、PE/Chla 和 PC/Chla 都显著低于对照.

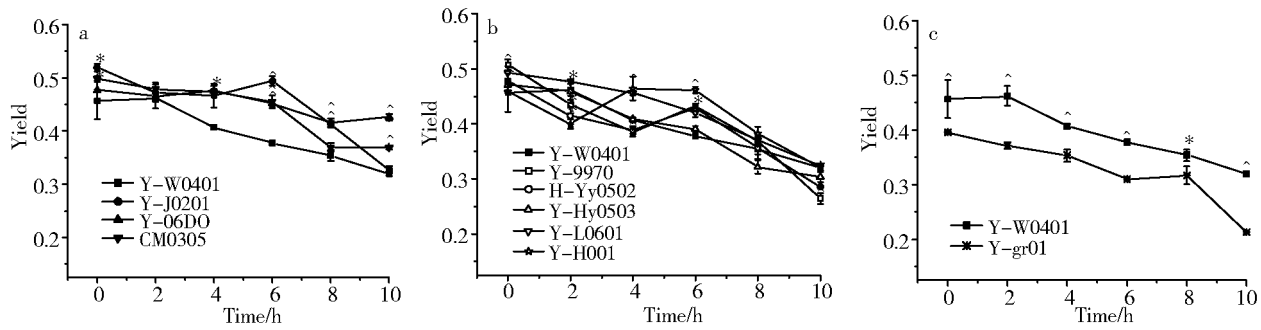


图 3 40 μmol/(m²·s) 光强下各品系藻体 Yield 日变化

Fig 3 Daily changes of Yield of different strains grown under light intensity of 40 μmol/(m²·s)

注: 表示与 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.01$; * 表示与 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.05$

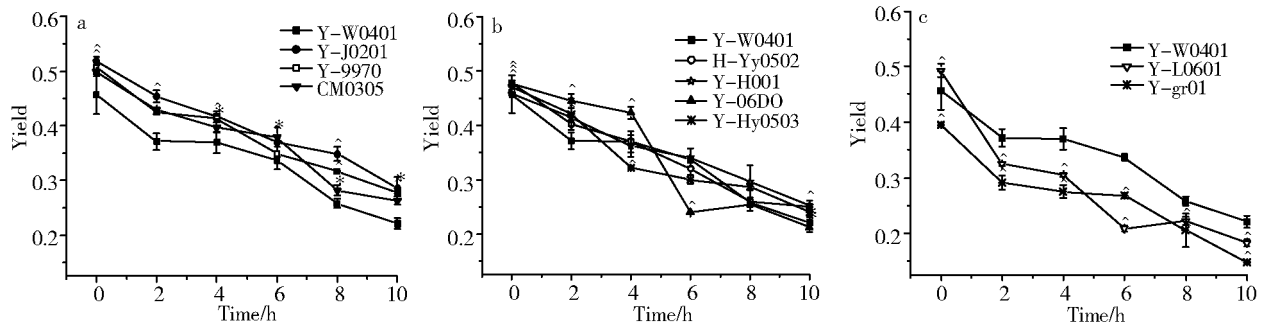


图 4 78 μmol/(m²·s) 光强下各品系藻体 Yield 日变化

Fig 4 Daily changes of Yield of different strains grown under light intensity of 78 μmol/(m²·s)

注: 表示与 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.01$; * 表示与 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.05$

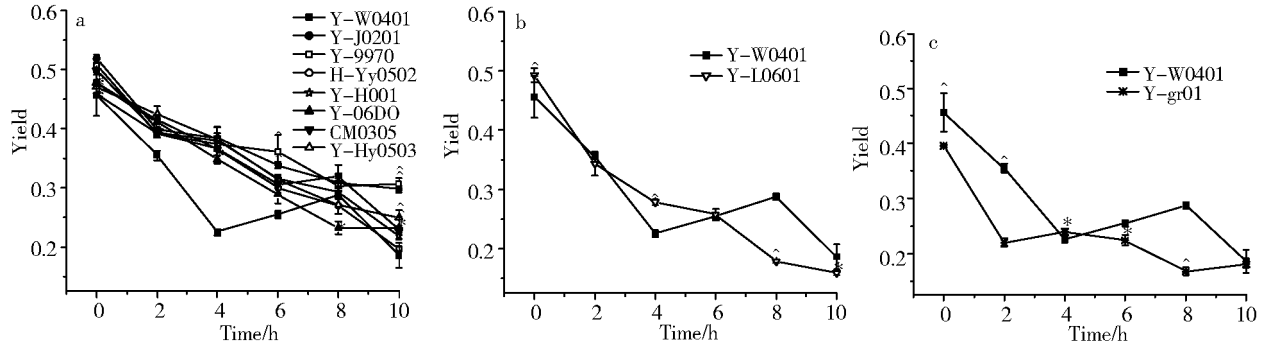


图 5 156 μmol/(m²·s) 光强下各品系藻体 Yield 日变化

Fig 5 Daily changes of Yield of different strains grown under light intensity of 156 μmol/(m²·s)

注: 表示与 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.01$; * 表示与 Y-W 0401 差异水平达到 $P < 0.05$

植物叶绿素荧光与光合作用过程密切相关, 张其德等^[11]、赵秀琴等^[12]利用叶绿素荧光技术研究了杂交水稻叶片的光合效率, 指出杂交水稻不同品种间光合效率存在差异. 荧光参数 Yield 反映样品用于光合电子传递的能量占所吸收光能的比例, 是 PSII 反应中心在部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率^[13]. 本实验研究比较了条斑紫菜品系的叶绿素荧光特征, 发现被测试样都有各自的表征特点. 选育品系

Y-J0201 和诱变实验品系 CM 0305 的 Yield 高于对照种质 Y-W 0401, 表现为较高的光能利用效率, 而绿色突变体 Y-gr01 的 Yield 明显偏低, 显示对光能的较低利用率. 在 $40 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $78 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的较低实验光强下, 被测试样中只有 3 个品系 Yield 高于 Y-W 0401 (图 4a 5a), 而当实验光强提高至 $156 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 高于对照的品系增至 7 个 (图 6a), 表明选育种质有各自的光合生理特点, 也说明与原产地自然生长种群相比, 大多数选育品系有较高光能利用效率的特征.

紫菜光能利用效率与其色素含量及比例密切相关, H axo 等在对大型红藻光合色素光谱的研究表明, 藻胆蛋白有比叶绿素更高的光能利用活性^[14]. 对各测试样品的光合色素比较分析可以看出, 选育品系 Y-J0201 和诱变实验品系 CM 0305 的 PE/Chla PC/Chla 和 APC/Chla 高于对照种质 Y-W 0401, 其 Yield 也高于 Y-W 0401, 而绿色突变体 Y-gr01 的相应比值均显著低于对照, 同样的光能利用效率也显示偏低结果. 由此可见, 紫菜藻体对光能的利用率与其主要光合色素的比值有相关性.

[参考文献]

- [1] 张学成, 秦松, 马家海, 等. 海藻遗传学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005 188
- [2] 张学成, 张锦东, 隋正红, 等. 江蓠属藻胆蛋白的研究 I 诱变突变体筛选及藻胆蛋白的光谱特性 [J]. 青岛海洋大学学报, 1996 26 (3): 318-325
- [3] Yan X H, Fujita Y, Anuga Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales Rhodophyta) [J]. Journal of Applied Phycology, 2000, 12(1): 69-81.
- [4] Toohey B, Kendrick G A, Wernberg T, et al. The effects of light and thallus scour from *Ecklonia radiata* canopy on an associated foliose algal assemblage: the importance of photoacclimation [J]. Marine Biology, 2004 144(5): 1 019-1 027.
- [5] 梁英, 冯力霞, 尹翠玲, 等. 高温胁迫对三角褐指藻和纤细角毛藻叶绿素荧光动力学影响 [J]. 中国海洋大学学报, 2006 36 (3): 427-433.
- [6] Sayed O H, El-shahed A M. Growth Photosynthesis and circadian patterns in *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta) in response to growth temperature [J]. Algal Biology, 2000, 21(3): 283-290.
- [7] Kim K Y, Galarby D J. Photosynthesis in *Codium fragile* (Chlorophyta) from a Nova Scotia estuary: responses to desiccation and hyposalinity [J]. Marine Biology, 2007 151(1): 99-107.
- [8] Bennet A, Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga [J]. Journal of Cell Biology, 1973 58 419-435.
- [9] Wellburn A R. The spectral determination of chlorophylls a and b as well as total carotenoids using various solvents with spectrophotometers of different resolution [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 1994 144(3): 307-313.
- [10] 高洪峰. 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化 [J]. 海洋与湖沼, 1993 24(6): 645-648
- [11] 张其德, 卢从明, 张启峰, 等. 几组杂交组合的杂交稻及其亲本光合特性的比较研究 [J]. 生物物理学报, 1996 12 (3): 511-516
- [12] 赵秀琴, 赵明, 陆军, 等. 热带远缘杂交水稻高光效后代在温带的光合特性观察 [J]. 中国农业大学学报, 2002 7 (3): 1-6
- [13] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论 [J]. 植物学通报, 1999 16 (4): 444-448
- [14] Haxo F T, Blinks I R. Photosynthetic action spectra of marine algae [J]. General Physiology, 1950 33 389-422

[责任编辑: 孙德泉]