

华北半叶紫菜繁殖组织形成期间的的光合特性研究

王云霞¹, 王苗苗¹, 夏洞明², 张涛², 许璞², 姜红霞²

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210046)

(2. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500)

[摘要] 本实验将半叶紫菜华北变种(*Porphyra katadai* var. *hemiphylla*) 叶状体的雌性营养组织(FV)和雄性营养组织(MV)在室内(5~20℃, 10、80 μmol/(m²·s))进行长期培养20 d, 跟踪测定繁殖组织形成期间的叶绿素荧光参数(Yield、 F_v/F_m)和光合放氧速率, 同时对组织块的发育情况进行显微镜观察。结果表明:(1)培养过程中繁殖组织的形成与各光合参数的降低是紧密相关的;(2)培养温度相同时,FV、MV在80 μmol/(m²·s)下的成熟度较10 μmol/(m²·s)的高, 而同时各光合参数的降幅也更大;(3)相同光强下, 各组织的发育程度表现为随实验范围内温度的上升而增加, MV培养物的光合活性在10℃时相对较高、20℃时最低, 而FV培养物的光合活性则表现出随温度升高而降幅减小。

[关键词] 半叶紫菜华北变种, 繁殖组织, 叶绿素荧光, 光合放氧速率

[中图分类号] Q945.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2011)03-0095-08

Photosynthetic Characteristics During the Formation of Reproductive Tissues of *Porphyra Katadai* var. *Hemiphylla*

Wang Yunxia¹, Wang Miaomiao¹, Xia Dongming², Zhang Tao², Xu Pu², Jiang Hongxia²

(1. School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

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

Abstract: In this study, chlorophyll fluorescence parameters (Yield, F_v/F_m) and oxygen evolution were followed during the formation of reproductive tissues when female vegetative tissues (FV) and male vegetative tissues (MV) of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* were cultured indoor (5~20℃, 10 and 80 μmol/(m²·s)) for 20 days. At the same time, development of these tissues in culture was observed by microscope. The formation of reproductive tissues was closely correlated with the decreasing of photosynthetic activities. At the same temperature the tissues cultured under 80 μmol/(m²·s) showed a greater extent of maturation than those under 10 μmol/(m²·s) did, whereas their decreasing degree of photosynthesis was also larger. Under the same light intensity the extent of maturation ascended with our increasing temperature. At the same time photosynthetic activity of MV culture was the highest at 10℃ and the lowest at 20℃, but the decreasing degree of photosynthesis of FV culture was smaller at higher temperature.

Key words: *Porphyra katadai* var. *hemiphylla*, reproductive tissue, chlorophyll fluorescence, oxygen evolution

半叶紫菜华北变种(*Porphyra katadai* Miura var. *hemiphylla* Tseng et T. J. Chang)属于红藻门(Rhodophyta)、红藻纲(Protofloridae)、红毛菜亚纲(Bangioideae)、红毛菜目(Bangiales)、红毛菜科(Bangiaceae)、紫菜属(*Porphyra*)^[1]。通常简称华北半叶紫菜, 主要分布在山东青岛至辽宁大连的黄海西部海区, 野生藻体大多是雌雄同体, 雌区深紫红色、雄区淡紫黄色至黄白色, 一条直线从端部到基部将雌区、雄区分成两不等部分^[2,3]。这种独特的性别表现方式使得雌、雄营养组织都能区分开而且较容易取得, 从而吸引了相关研究者对其雌、雄营养组织或原生质体进行单独培养以研究其生长发育, 发现其在培养过程中会逐渐发育并形成繁殖器官^[4-6]。

收稿日期: 2011-03-09.

基金项目: 国家自然科学基金(40906085)、江苏省2010年度高校青蓝工程。

通讯联系人: 姜红霞, 博士, 副教授, 研究方向: 藻类光合生理。E-mail: hxjiang10@163.com

早期对紫菜叶状体生长发育的研究大多是直接观测藻体的色泽、长度、面积和生物量的变化^[7-10],以及比较繁殖细胞相对于营养细胞发生的超微结构变化^[11,12]等,而作为叶状体生长发育重要基础的光合作用则研究甚少. 光合生理研究能够为生长发育研究提供快速、便捷、可靠的量化指标. 除了经典的监测气体交换,还有近几十年发展的叶绿素荧光技术,因为能快速、方便地监测藻体 PS II 活性以及能量代谢状况而备受关注^[13,14]. 紫菜叶状体上色素组成与比例不同的部位或不同品系,其光合速率及光饱和点也都存在差异^[15,16];华北半叶紫菜雌、雄营养组织的主要光合色素含量及组成比例也不尽相同,而且二者对于干出和回水的光合生理响应不同^[17,18];而紫菜叶状体雌、雄繁殖组织无论外观颜色还是色素体超微结构都有别于营养组织^[12]. 因此,营养组织发育形成繁殖组织过程中的光合生理活性可能发生变化. 本实验将华北半叶紫菜的雌、雄营养组织于不同光温条件下进行单独培养,跟踪测定其 PS II 活性和光合放氧速率,以期揭示华北半叶紫菜有性繁殖组织形成过程中的光合生理特性,为进一步探索其繁殖发育规律提供指导.

1 材料与方法

1.1 材料预处理及培养

华北半叶紫菜于2010年3月底采自青岛,挑选健康完整的藻株带回实验室清洗干净,于光照培养箱(GZX-250BS-III,上海新苗医疗器械有限公司)内用暗沉淀且消毒过的海水预培养2 d(10℃、30 μmol/(m²·s)),光周期为12 L/12 D.

分别取华北半叶紫菜的雌性营养组织(FV)、雄性营养组织(MV),镜检确认后切取1×1 cm²的小块分装于含有50 ml 消毒海水的玻璃瓶中,每瓶放3块,置光照培养箱中分别培养于5℃、10℃、15℃、20℃和10 μmol/(m²·s)、80 μmol/(m²·s)(LI-485B 照度计, Li-COR 美国)下,光周期为12 L/12 D,每种处理设3次重复,每3 d 更换培养海水.

1.2 叶绿素荧光参数的测定

样品的叶绿素荧光参数由调制叶绿素荧光仪(Water-PAM, Walz, 德国)在实验开始前和开始后的每4 d进行测定,包括有效光化学效率(Yield)和最大光化学效率(F_v/F_m).

光适应样品的 Yield: $\text{Yield} = \Delta F/F'_m = (F'_m - F_t)/F'_m$,

样品暗适应15 mins 后,测定 F_v/F_m : $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$.

1.3 光合放氧速率的测定

样品的光合放氧速率用氧电极(YSI 5300A, 美国)在实验开始前和开始后的每4 d 进行测定,测定时采用各样品培养时的光温条件.

1.4 营养组织的发育变化

营养组织在培养期间不定期进行显微观察(E800, Nikon, 日本),参照汤晓荣^[5]和姜红霞^[6]对紫菜营养组织培养中发育现象的描述,以雌性营养组织(FV)上形成较圆的厚壁细胞、细胞质变得浓厚、颜色较深和色素体轮廓模糊,雄性营养组织(MV)上形成精子囊器等为标准;以组织块中发育成熟区的面积占比来衡量成熟度.

1.5 统计分析

所有实验中,都是采用3次重复或是6次测量,试验数据表示为平均值±标准差($n=3\sim6$),处理间的数据结果用 t -检验或方差分析(ANOVA)进行差异显著性检验,以 $P<0.05$ 为差异的显著水平.

2 结果

2.1 营养组织生长发育观察

起始雌性营养组织(FV)和雄性营养组织(MV)的细胞呈多边形,星状色素体轮廓清晰(图1a~b). 培养过程中,FV培养物的发育变化:第12 d时观察到细胞变圆,细胞壁变厚、细胞质颜色变深、色素体轮廓不清楚等现象(图1c). MV培养物的发育变化:营养细胞体积变大,液泡变大,色素体轮廓不清楚(图1d);之后细胞分裂形成细胞团,细胞颜色变浅,向精子囊器分化;4 d之后即见到精子囊器的产生(图1e~f),且是从组织块边缘开始的;培养至第20 d, MV培养物大多出现组织块解离现象.

从第16 d的显微观察结果来看(表1),营养组织培养物的发育都表现出成熟区域的面积占比随温度

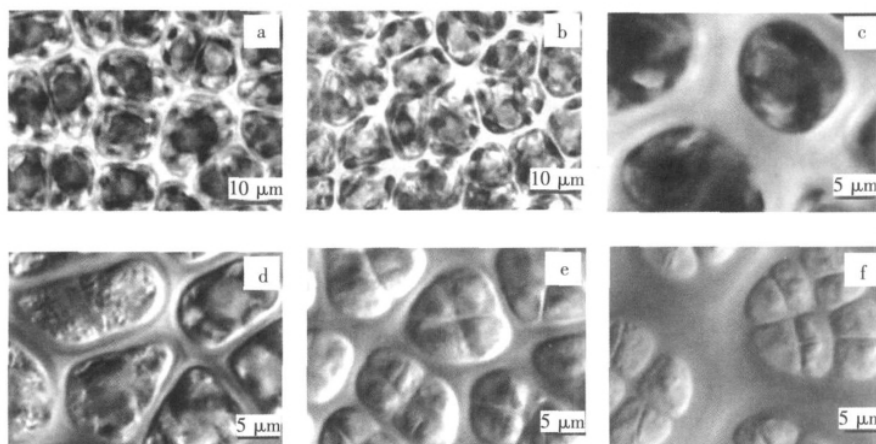


图1 华北半叶紫菜营养组织在培养期间的发育变化. a. 起始的雌性营养组织; b. 起始的雄性营养组织; c. 雌性营养组织培养物上细胞的分化; d~f. 雄性营养组织培养物上细胞的分化和精子囊器的形成

Fig.1 Development of vegetative tissues of *P. katadai* var. *hemiphylla* in culture. a. initial female vegetative tissue; b. initial male vegetative tissue; c. differentiation of cells on female vegetative tissue culture; d – f. differentiation of cells and formation of spermatangia on male vegetative tissue culture

的上升而增大,且大多也随光强的升高而增大.

2.2 营养组织培养过程中的光活性变化

从图2可以看出,在培养过程中,雌性营养组织(FV)培养物在 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下、雄性营养组织(MV)培养物在 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下的Yield均随着培养时间的延长而有不同程度降低($P < 0.05$). $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,第20 d时FV在 5°C 、 10°C 、 15°C 和 20°C 时的降幅分别为39%、52%、8%和18%;MV的Yield在培养期间则没有显著变化,大多温度时都在起始值水平波动,而且 10°C 时在第12 d甚至上升了6%(图2a~d). 5°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV和MV在第4 d就开始显著下降,之后一直保持稳定的下降趋势,且FV降低得较快,第4 d和第20 d分别降低了37%和75%,而MV则分别降低了10%和16%(图2e). 10°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV在第4 d开始显著下降,第4 d和第20 d分别降低了31%和57%,MV的Yield下降相对较缓慢,第8 d才减少了15%,之后甚至稍有回升,第20 d时的降幅仅为7%(图2f). 15°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下的变化趋势与低温下相似,FV在第4 d开始显著下降,之后稍有波动,但降幅都保持在31%~49%,MV在第8 d才显著下降,降幅为7%~10%(图2g). 20°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV在第4 d开始显著下降,但降幅比低温下的要小,第4 d和第20 d仅分别降低了22%和28%,MV在第8 d开始显著下降,降幅为5%~19%(图2h).

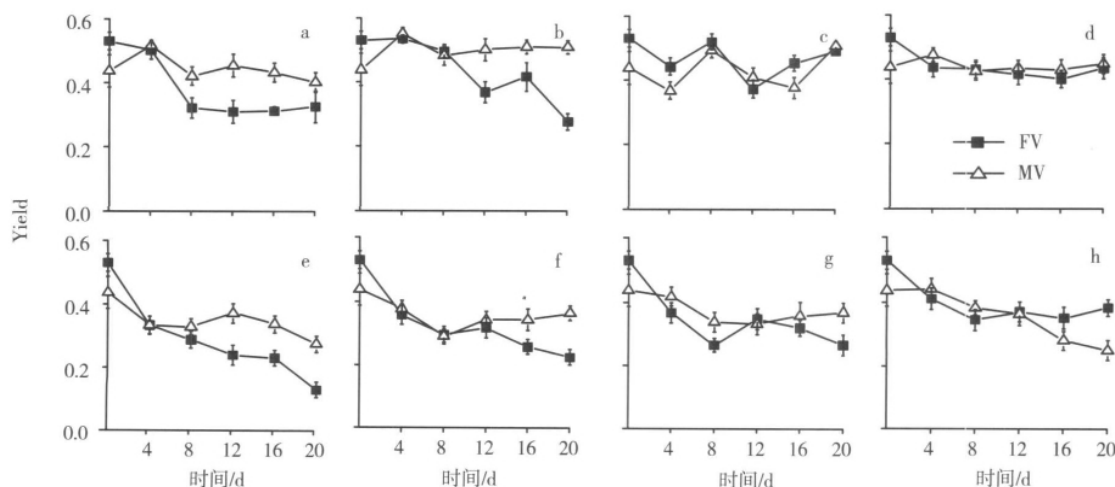
相对低温下(5°C 、 10°C),营养组织培养物的Yield在培养期间都表现出不同程度的降低,其中MV的降低较慢,从第8 d~12 d开始显著高于FV(图2a, b, e, f). 5°C 、 10°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下MV的Yield在第8 d比FV的分别高出31%、14%,第20 d分别高出23%、110%. 10°C 、 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,MV在第12 d比FV显著高出36%,第20 d则高出84%; 10°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,MV在第16 d比FV高出33%,第20 d高出61%. 15°C 的各光强下以及 20°C 的 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV和MV的Yield相比无显著差异. 高温高光(20°C 、 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)下,培养初期FV和MV的Yield相比也没有显著差异,但FV的降低较慢,在培养后期能保持相对较高的Yield水平,到第16 d时比MV显著高出25%,第20 d高出53%(图2h).

表1 华北半叶紫菜营养组织培养16 d后的发育情况

Table 1 The development of vegetative tissues of *P. katadai* var. *hemiphylla* in culture after 16 days

温度/ $^\circ\text{C}$	光强/ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	FV	MV
5	10	(+)	++
	80	(+)	++(+)
10	10	(+)	++
	80	+	++
15	10	+	++
	80	+	+++
20	10	+	+++
	80	+(+)	+++

注: (+) 代表成熟度在10%下; + 代表成熟在10~20%; ++ 代表成熟度在20~30%; +++ 代表成熟度在40~60%; +++(+) 代表成熟度在60~75%; ++++ 代表成熟度在75~90%.

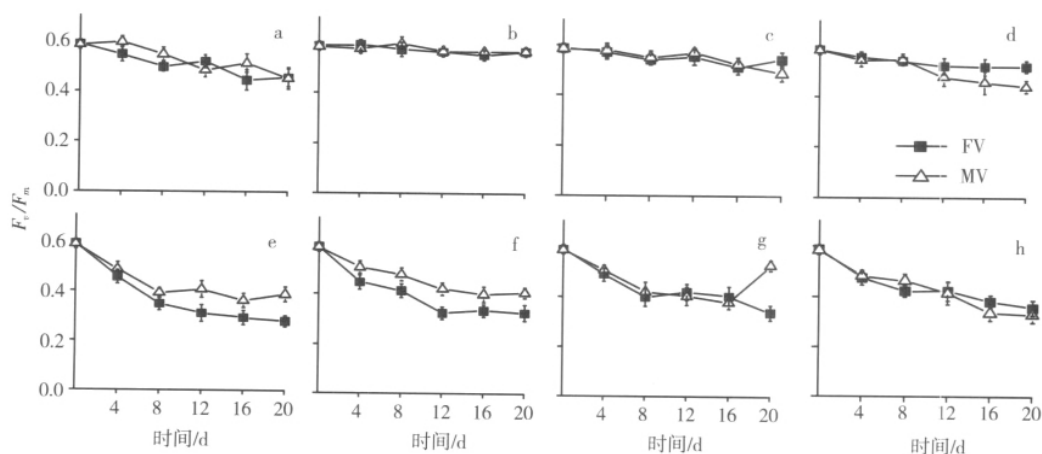


a. -5°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; b. -10°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; c. -15°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; d. -20°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;
e. -5°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; f. -10°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; g. -15°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; h. -20°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

图2 华北半叶紫菜营养组织培养过程中的Yield变化;FV-雌性营养组织培养物 MV-雄性营养组织培养物

Fig.2 Yield of vegetative tissues of *P. katadai* var. *hemiphylla* in culture; FV-female vegetative tissue culture ,
MV-male vegetative tissue culture

从图3可以看出,培养期间,除了 10°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下MV的 F_v/F_m 没有明显的变化外,其余各培养条件下FV和MV的 F_v/F_m 都表现出显著的下降($P < 0.05$). 5°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV和MV的 F_v/F_m 分别从第4 d和第8 d开始显著降低,比各自起始值降低了6%~7%,至第20 d时降低了23%(图3a); 5°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV和MV都从第4 d开始显著下降,FV在第4 d和第20 d时分别降低了23%和52%,MV则仅分别降低了17%和34%(图3e). 10°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV在第12 d时显著下降了4%,之后则一直维持该水平,MV无明显变化(图3b); 10°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,两者均从第4 d开始持续的下降,FV在第4 d和第20 d时的降幅分别是24%和44%,MV则分别是13%和30%(图3f). 15°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV的 F_v/F_m 在第8 d时下降了8%,之后有所波动,但变化不大,MV从第16 d开始显著下降,降幅为10%~16%(图3c); 15°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,FV、MV在第4 d时分别降低了17%、14%,至第16 d时两者的变化趋势和幅度相似,第20 d时FV的降幅为43%,MV的为10%(图3g).



a. -5°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; b. -10°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; c. -15°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; d. -20°C 、 $10\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;
e. -5°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; f. -10°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; g. -15°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; h. -20°C 、 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

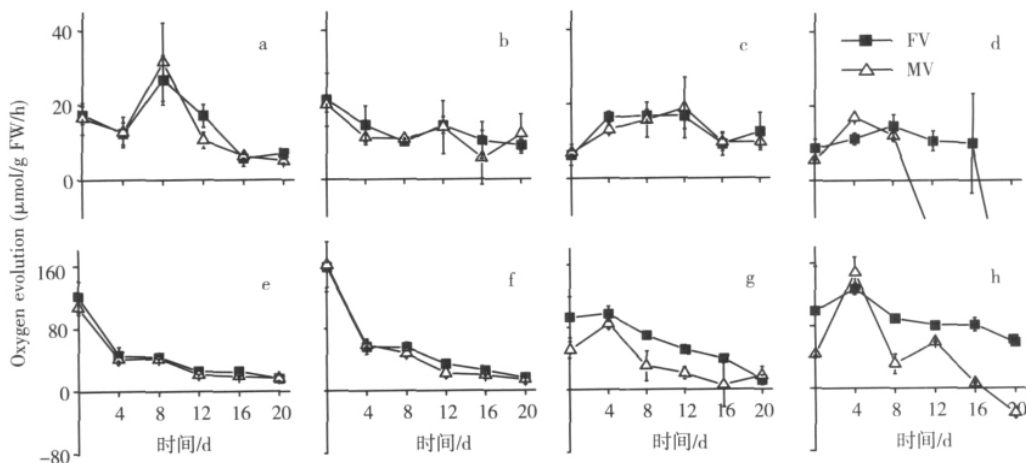
图3 华北半叶紫菜营养组织培养过程中 F_v/F_m 的变化;FV-雌性营养组织培养物 MV-雄性营养组织培养物

Fig.3 F_v/F_m of vegetative tissues of *P. katadai* var. *hemiphylla* in culture; FV-female vegetative tissue culture ,
MV-male vegetative tissue culture

20℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, FV 在第 4 d 和第 20 d 时的降幅分别为 5% 和 11%, MV 分别为 7% 和 25% (图 3d); 20℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, FV 在第 4 d 和第 20 d 时分别降低了 19% 和 40%, MV 则分别降低了 17% 和 44% (图 3h)。

10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下 5℃、10℃ 和 15℃ 时 FV、MV 之间的 F_v/F_m 没有显著差异, 但是 20℃ 下培养到后期 FV 则比 MV 高出 9% ~ 18% (图 3a ~ d)。80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, MV 的 F_v/F_m 在 5℃ 时从第 8 d 开始比 FV 的显著高出 13% ~ 38%, 在 10℃ 时从第 4 d 开始高出 13% ~ 25%, 15℃ 和 20℃ 时 FV、MV 之间无显著差异, 虽然 20℃ 时 FV 培养到后期略高于 MV (图 3e ~ h)。

从图 4 可以看出, 培养期间, FV 和 MV 的光合放氧速率仅在 15℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下表现出上升趋势, 10℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 15℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下只能保持起始水平, 而其他光温条件下则均是随培养时间的延长而下降的。5℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, 营养组织都是培养到 16 d 时光合放氧速率显著下降, FV 在第 16 d 和第 20 d 时的降幅分别为 67% 和 59%, MV 的则分别降低了 59% 和 69% (图 4a); 5℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, 光合放氧速率在第 4 d 就显著下降, FV 的在第 4 d 和第 20 d 时分别降低了 62% 和 86%, MV 的则分别降低了 61% 和 84% (图 4e)。10℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, 变化趋势相同, 也从第 4 d 降低, FV 在第 4 d 和第 20 d 时的降幅分别为 64% 和 89%, MV 为 64% 和 91% (图 4f)。20℃ 下, FV 的光合放氧速率虽然也表现出下降趋势, 但降低并不显著; 而 MV 在 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下培养至第 12 d 就显著降低为负值, 在 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下则是到第 20 d 才降为负值, 比起始值下降了 1.72 倍 (图 4d, h)。



a. -5℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; b. -10℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; c. -15℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; d. -20℃、10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;
e. -5℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; f. -10℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; g. -15℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; h. -20℃、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

图 4 华北半叶紫菜营养组织培养过程中光合放氧速率变化; FV-雌性营养组织培养物, MV-雄性营养组织培养物

Fig. 4 Oxygen evolution of vegetative tissues of *P. katadai* var. *hemiphylla* in culture; FV-female vegetative tissue culture, MV-male vegetative tissue culture

10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下 5℃、10℃ 和 15℃ 时 FV 和 MV 之间的光合放氧速率在培养期间都没有显著差异, 而 20℃ 培养到第 12 d 时 FV 比 MV 高出 1.70 倍, 第 20 d 时 MV 的光合放氧速率为 -596.37 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW/h (图 4a ~ d)。80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下 5℃、10℃ 和 15℃ 时 FV 和 MV 间也都没有差异, 20℃ 培养到第 8 d 时 FV 的光合放氧速率是 MV 的 1.85 倍, 第 20 d 时为后者的 2.84 倍 (图 4e ~ h)。

2.3 温度对营养组织培养过程中光合活性的影响

2.3.1 温度对雌性营养组织(FV)光合活性的影响

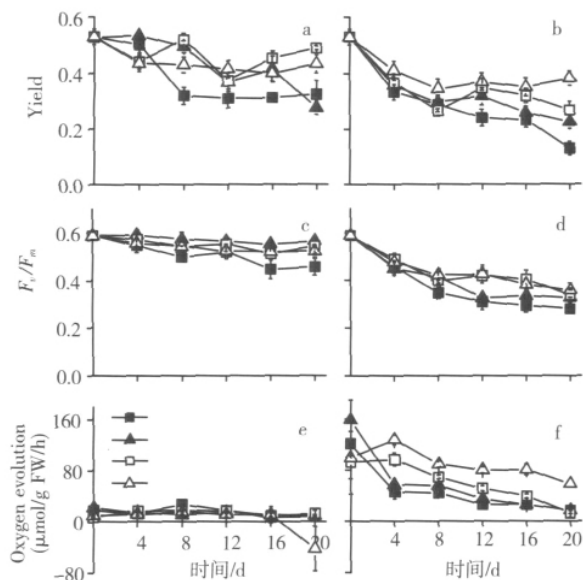
10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, FV 的 Yield 和 F_v/F_m 在 5℃ 时显著低于其余各温度, 10℃ 和 15℃ 时在培养过程中波动较大且相互间没有显著差异, 而 20℃ 时则略低于 10℃ 和 15℃ (图 5a, c); FV 的光合放氧速率在各温度间大多没有差异, 第 20 d 时 20℃ 下显著低于 10℃ 和 15℃ (图 5e)。

80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, FV 的 Yield 在 20℃ 时最高, 其余各温度间在培养初期没有差异, 但从第 12 d 开始表现出 15℃ > 10℃ > 5℃ (图 5b); FV 的 F_v/F_m 在 5℃ 时最低, 而 15℃ 和 20℃ 时则相对较高 (图 5d); FV

的光合放氧速率在 20℃ 时最高, 5℃ 和 10℃ 之间无显著差异, 且在培养前期都低于 15℃ (图 5f)。

2.3.2 温度对雄性营养组织 (MV) 光合活性的影响

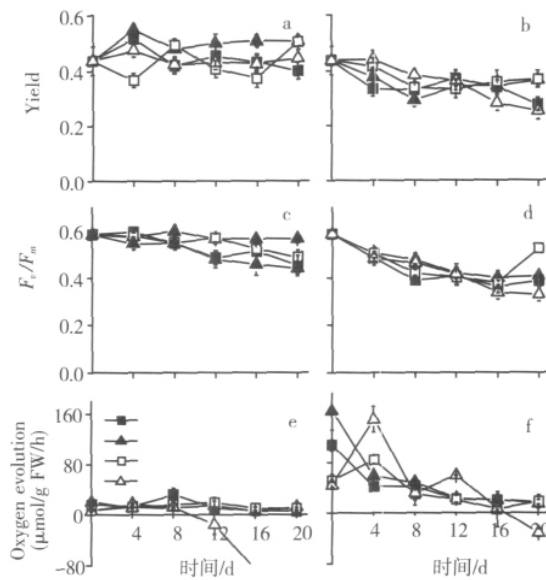
10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, MV 的 Yield 和 F_v/F_m 在 10℃ 时显著高于其他各温度 (图 6a, c); 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下, 培养初期 MV 的 Yield 和 F_v/F_m 在各温度间均无显著差异, 到后期则以 20℃ 时最低 (图 6b, d)。在培养初期的各光强下, MV 的光合放氧速率在各温度间都没有差异, 而培养后期 20℃ 时则显著低于其他温度并降为负值 (图 6e, f)。



a, c, e 为 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, b, d, f 为 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

图5 华北半叶紫菜雌性营养组织 (FV) 培养物在不同温度下的光合活性

Fig.5 Photosynthetic activities of female vegetative tissue (FV) of *P. katadai* var. *hemiphylla* cultured at different temperatures



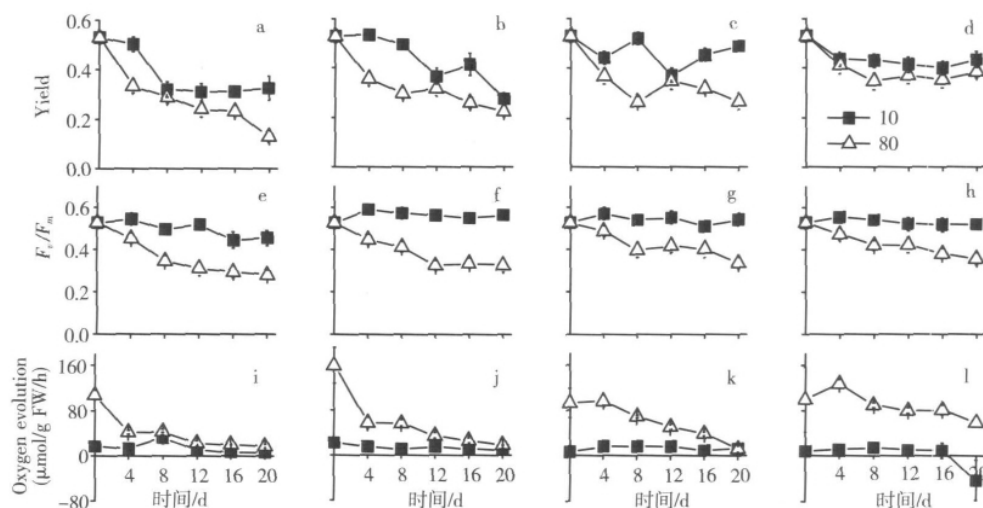
a, c, e 为 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, b, d, f 为 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

图6 华北半叶紫菜雄性营养组织 (MV) 培养物在不同温度下的光合活性

Fig.6 Photosynthetic activities of male vegetative tissue (MV) of *P. katadai* var. *hemiphylla* cultured at different temperatures

2.4 光强对营养组织培养过程中光合活性的影响

FV 的 Yield、 F_v/F_m 以 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下明显较高, 而光合放氧速率则以 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下显著较高 (图 7)。MV 的 Yield 和 F_v/F_m 也都以 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下较高, 而光合放氧速率在培养前期都以 80



a, e, i 为 5℃, b, f, j 为 10℃, c, g, k 为 15℃, d, h, l 为 20℃

图7 华北半叶紫菜雌性营养组织 (FV) 培养物在不同光强 ($\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$) 下的光合活性

Fig.7 Photosynthetic activities of female vegetative tissue (FV) of *P. katadai* var. *hemiphylla* cultured under different light intensities

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下较高,培养后期在 5°C 、 10°C 和 15°C 时各光强之间没有显著差异(图 8)。

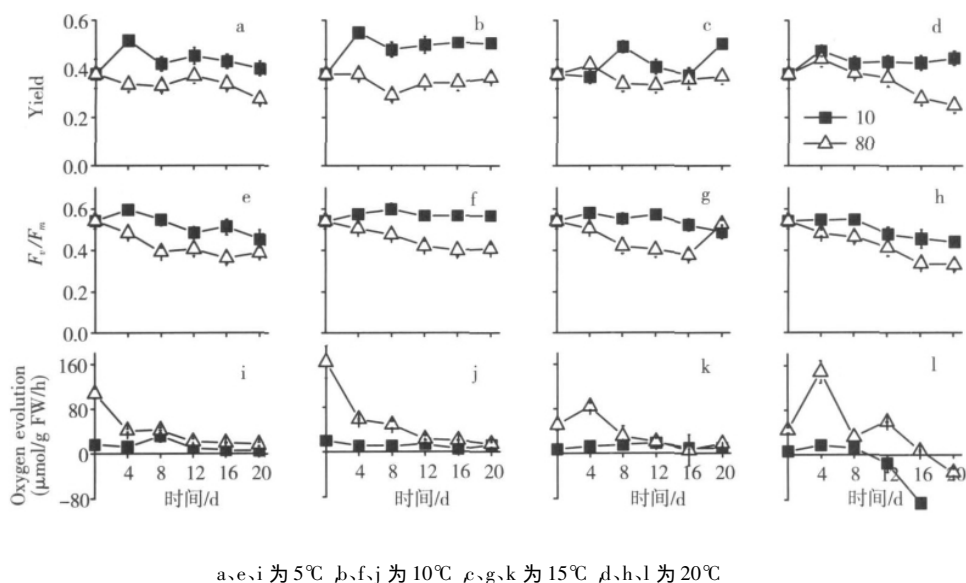


图 8 华北半叶紫菜雄性营养组织 (MV) 培养物在不同光强 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$) 下的光合活性

Fig. 8 Photosynthetic activities of male vegetative tissue (MV) of *P. katadai* var. *hemiphylla* cultured under different light intensities

3 讨论

本研究发现,华北半叶紫菜雌、雄营养组织在培养过程中光合作用参数表现出降低趋势,而且与繁殖组织的形成是密切相关的。紫菜叶状体在 $5^\circ\text{C} \sim 20^\circ\text{C}$ 都能形成繁殖组织,而且华北半叶紫菜营养组织在 $45 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下培养即可出现发育现象^[5, 19, 20]。本实验采用相同范围的光温条件进行培养,发现华北半叶紫菜 MV 在第 4 d 时就有精子囊器的形成,第 12 d 时 FV 上有细胞变圆、色素体轮廓模糊等发育现象,与早期的组织培养结果一致^[6, 21]。对坛紫菜叶状体的超微结构研究显示,繁殖组织色素体的类囊体数目明显减少^[12],暗示其光合作用能力的降低;而且本实验采用的光温条件并不能对紫菜的光合作用能力形成胁迫^[22-25]。已有研究显示,在葡萄叶片生长发育的不同阶段,其 PS II 的结构和功能也发生了变化,相应的光合参数也随之改变^[26];紫菜虽然只是低等植物,但 PS II 的这种发育变化也是可能发生的。

显微观察结果显示,在本实验的光温条件下,营养组织培养物的成熟度均随着光温的升高而增大,同时其光合参数的降幅也更大。研究表明,在 $10 \sim 70 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的范围内,光强的升高能促进条斑紫菜体细胞的发育,包括细胞团的形成、苗的生长和出苗率^[27];对条斑紫菜以及华北半叶紫菜的营养组织进行培养时,也发现营养组织的分化速度随培养温度的上升而加快^[5]。

雌、雄营养组织培养物的光合活性对温度的响应则不尽相同。MV 的发育情况和光合活性变化具有一致性, 20°C 下培养到后期有大片精子囊器生成,边缘区域颜色变浅且组织块出现解离;同时, MV 的光合活性在 20°C 下最低且降幅最大,相对而言 10°C 则最有利于其生长。FV 尽管也有不同程度的发育,但是从表观颜色或组织块完整性方面则看不出有明显变化,其各项光合参数都以 5°C 时最低, $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下以 $10^\circ\text{C} \sim 15^\circ\text{C}$ 时最高,而 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下则以 20°C 时最高,不同于 MV 的光合活性。华北半叶紫菜的雌、雄区的藻胆蛋白含量不同,可能造成两区的颜色有深浅之分,但叶绿素 a 含量则没有显著差异,而且两区的 F_v/F_m 是相同水平^[18]。本文雌、雄营养组织间的起始光合参数也没有差异,这一点是不难理解的,因为叶绿素荧光技术测定的是叶绿素 a 荧光^[28];坛紫菜的超微结构研究也发现果胞的类囊体没有减少,而且果孢子囊的类囊体数目减少也远不如精子囊的明显^[12];可见紫菜叶状体雌性繁殖组织形成期间光合活性的变化相对较小。

【参考文献】

- [1] 施之新,谢树莲,华栋. 中国淡水藻志: 红藻门褐藻门[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 1-30.

- [2] 曾呈奎,张德瑞. 中国两种新紫菜[J]. 海洋与湖沼,1978,1(1): 76-83.
- [3] Tseng C K. Common Seaweeds of China [M]. Beijing: Science Press,1983.
- [4] Yan Z M. A study on the cultivation of the isolated reproductive cell of *Porphyra katadai* Miura var. *hemiphylla* Tseng et T. J. Chang [J]. Collect Ocean Works,1987,10: 135-138.
- [5] 汤晓荣. 紫菜叶状体的发育研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所,1997.
- [6] 姜红霞. 华北半叶紫菜和坛紫菜的生活史多样性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学海洋生命学院,2004.
- [7] Iwasaki H. The life-cycle of *Porphyra tenera* in vitro [J]. Biological Bulletin,1961,121(1): 173-187.
- [8] Bird C J,Chen L C M,Mclachlan J. The culture of *Porphyra linearis* (Bangiales,Rhodophyceae) [J]. Canadian Journal of Botany,1972,50(9): 1859-1863.
- [9] Kapraun D F,Luster D G. Field and culture studies of *Porphyra rosengurtii* Coll et Cox (Rhodophyta,Bangiales) from North Carolina [J]. Botanica Marina,1980,23: 449-457.
- [10] Gao K,Aruga Y,Asada K,et al. Enhanced growth of the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda in high CO₂ concentrations [J]. Journal of Applied Phycology,1991,3(4): 355-362.
- [11] Hawkes M W. Sexual reproduction in *Porphyra gardneri* (Smith et Hollenberg) Hawkes (Bangiales,Rhodophyta) [J]. Phycologia,1978,17(3): 329-353.
- [12] 王素娟. 中国经济海藻超微结构研究[M]. 杭州: 浙江科技出版社,1991: 1-48.
- [13] Dring M J,Makarov V,Schoschina E,et al. Influence of ultraviolet-radiation on chlorophyll fluorescence and growth in different life-history stages of three species of *Laminaria* (phaeophyta) [J]. Marine Biology,1996,126(2): 183-191.
- [14] Han T,Kong J A,Han Y S,et al. UV-A/blue light-induced reactivation of spore germination in UV-B irradiated *Ulva pertusa* (Chlorophyta) [J]. Journal of Phycology,2004,40(2): 315-322.
- [15] 周百成,武宝轩,曾呈奎,等. 条斑紫菜的色素系统和光合作用的差异性[J]. 科学通报,1966,11(9): 427-429.
- [16] Li Y X,Wang G C,Xu P,et al. Induction and characterization of green pigmentation mutant in *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. Aquaculture,2008,282(1/4): 117-123.
- [17] 潘光华. 不同性别来源的半叶紫菜华北变种和坛紫菜的生长发育以及生化特征比较[D]. 青岛: 中国海洋大学海洋生命学院,2006.
- [18] Lin A,Wang G,Yang F,et al. Photosynthetic parameters of sexually different parts of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* (Bangiales,Rhodophyta) during dehydration and re-hydration [J]. Planta,2009,229(4): 803-810.
- [19] Notoya M,Kikuchi N,Aruga Y,et al. *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara (Bangiales,Rhodophyta) in culture [J]. Japanese Journal of Phycology,1992,40(1): 273-278.
- [20] Orfanidis S. Culture studies of *Porphyra leucosticta* (Bangiales,Rhodophyta) from the Gulf of Thessaloniki,Greece [J]. Botanica Marina,2001,44: 533-539.
- [21] Tang X R,Jiang H X,Fei X G,et al. New life cycles of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* in culture [J]. Journal of Applied Phycology,2004,16(6): 505-511.
- [22] Hannach G,Waaland J R. Growth and morphology of young gametophytes of *Porphyra abbottae* (Rhodophyta): effects of environmental factors in culture [J]. Journal of Phycology,1989,25(2): 247-254.
- [23] 何培民,张政值,张荣铎. 条斑紫菜的光合作用及其主要影响因素[J]. 南京农业大学学报,1999,22(4): 19-22.
- [24] 汤晓荣,费修缙. 半叶紫菜华北变种的丝状体成苗研究[J]. 海洋与湖沼,1999,30(2): 180-185.
- [25] 邹定辉. 潮间带海藻光合作用及其与大气 CO₂ 浓度升高关系的研究[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所,2001.
- [26] Jiang C D,Shi L,Gao H Y,et al. Development of photosystems 2 and 1 during leaf growth in grapevine seedlings probed by chlorophyll a fluorescence transient and 820 nm transmission in vivo [J]. Photosynthetica,2006,44(3): 454-463.
- [27] 何培民,王素娟. 外界因素对条斑紫菜体细胞分化发育的影响-温度、光强实验[J]. 海洋科学,1991,4: 61-65.
- [28] 韩博平,韩志国,付翔. 藻类光合作用机理与模型[M]. 北京: 科学出版社,2003: 59.

[责任编辑:黄 敏]