

文章编号: 1000-0615(2017)02-0230-10

DOI: 10.11964/jfc.20160610442

## 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

韩军军<sup>1</sup>, 钟晨辉<sup>2,3</sup>, 何培民<sup>1</sup>, 于克峰<sup>1</sup>, 林琪<sup>2,3\*</sup>

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361013;

3. 福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室, 福建 厦门 361013)

**摘要:** 以野生型坛紫菜自由丝状体为培养材料, 研究不同光质(绿光510~550 nm、蓝光455~475 nm、红光580~630 nm、白光400~760 nm)的发光二极管(LED)对无性增殖过程中自由丝状体生长及生理特性的影响。结果显示, 蓝光能提高自由丝状体的生长速率, 蓝光下藻体增重分别是白光、绿光、红光下藻体增重的1.10倍、1.82倍和2.17倍。蓝光处理有助于叶绿素 $a$ 和类胡萝卜素的积累, 二者含量分别较白光、绿光和红光处理提高13.77%、47.69%、63.42%和8.87%、87.07%、97.73%。蓝光和白光均有利于藻红蛋白合成, 而绿光和红光降低藻红蛋白合成, 但4种光质的LED光源对藻蓝蛋白合成的影响无显著性差异。蓝光能显著提高碳酸酐酶(CA)活性, 较白光下CA活性增加11.36%。蓝光和绿光显著提高1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(RubisCO)活性, 分别较白光下RubisCO活性增加28.17%和61.21%。红光和绿光下藻体在培养后期的色泽暗淡, 星状色素体少, 部分藻体细胞内容物溢出, 呈中空状态; 而蓝光和白光下藻体健康正常, 色泽鲜红。研究表明, 在今后的坛紫菜自由丝状体无性扩繁过程中可以适当增加LED光源的蓝光组分, 减少红光和绿光组分。

**关键词:** 坛紫菜; 自由丝状体; 光质; 生长; 生理特性

**中图分类号:** S 968.43

**文献标志码:** A

坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)隶属红藻门(Rhodophycophyta)、红藻纲(Rhodophyceae)、红毛菜亚纲(Bangiophycidae)、红毛菜目(Bangiales)、红毛菜科(Bangiaceae)、紫菜属(*Pyropia*), 是我国特有的暖温带紫菜栽培品种, 主要养殖在我国浙江、福建和广东等沿海地区, 其年总产量占全国紫菜总产量的75%<sup>[1]</sup>。坛紫菜的生活史由微型的丝状孢子体(2*n*)和大型的叶状配子体(*n*)两个异型交替世代组成<sup>[2]</sup>。丝状体阶段是紫菜生活史中的重要时期, 其生长与环境因子密切相关。丝状体在弱光低温培养条件下可以自由丝状体

的形式长期保存, 但是移入适宜的光照和温度条件下自由丝状体可实现快速营养增殖<sup>[3-4]</sup>, 粉碎后的藻丝钻入贝壳基质能长成完整的藻落, 在紫菜人工育苗过程中丝状体充当起类似于种子的角色, 该技术称为自由丝状体移植技术<sup>[5]</sup>。目前, 通过细胞工程技术选育的坛紫菜新种质广泛采用自由丝状体移植技术用于贝壳丝状体育苗<sup>[6]</sup>。因此在有限的时间内, 如何通过优化培养条件, 获取大量快速生长、优质健康的坛紫菜自由丝状体将变得尤为重要。

光是调控植物生长发育的关键生态因子之

收稿日期: 2016-06-12 修回日期: 2016-09-26

资助项目: 福建省种业创新与产业化工程项目(2014S1477-10); 福建省自然科学基金(2014J01095); 福建省海洋高新产业发展专项(闽海洋高新2014-19); 福建省海洋与渔业结构调整专项; 福建省海洋经济创新发展区域示范项目(2014FJPT01); 厦门南方海洋研究中心项目(14PZY017NF17, 15GZY021NF04)

通信作者: 林琪, E-mail: xmqlin@sina.com

一, 而光质是光的重要属性<sup>[7]</sup>。海洋水体的光强和光质会随着水深和水体透明度发生变化, 其中光质的变化是被优先考虑的。藻类对可见光的吸收波长主要集中在400~510 nm的蓝紫光区和610~720 nm的红橙光区。国内外大量研究发现, 光质对藻类的生长发育、形态建成、光合作用和物质代谢等具有重要的调控作用<sup>[8-13]</sup>。已有研究表明, 蓝光可以显著提高藻类孢子萌发速率及藻体光合效率和生长速率<sup>[10-13]</sup>, 并提高光合色素含量<sup>[9]</sup>。但少数学者也发现红光和绿光对部分藻类有促生长作用, 并有利于光合色素的合成与积累<sup>[14-17]</sup>。目前, 有关坛紫菜自由丝状体生长发育的生态因子研究主要集中在光照强度<sup>[3-4]</sup>、光周期<sup>[3]</sup>、温度<sup>[3-4]</sup>、盐度和营养供给水平<sup>[4]</sup>等方面, 尚未有关于光质对其生长发育的研究报道。发光二极管(LED)因其为冷光源, 具有能耗低、单色光谱发出光单色性高、寿命长等特点已广泛应用于植物的生长发育研究<sup>[18]</sup>, 但在藻类研究中应用甚少。本实验旨在选取野生型坛紫菜自由丝状体作为研究对象, 通过探讨蓝光(BL)、绿光(GL)、红光(RL)和白光(WL)等4种光质对其生长与生理特性的影响, 为丰富坛紫菜自由丝状体设施化扩繁技术提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验采用野生型坛紫菜丝状体(WT001)为供试材料, 该杂合丝状体由采自福建平潭岛牛山屿的成熟野生坛紫菜叶状体释放的单个果孢子萌发而成, 以自由丝状体的形式保存在实验室内。

### 1.2 实验方法

**自由丝状体的同步化培养** 取一定数量处于营养藻丝发育期的自由丝状体经粉碎机粉碎后, 置于单个5 L玻璃瓶内充气培养, 培养条件设置为光周期12 L : 12 D, 光照强度 $15 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 温度 $(24 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。每周更换一半MES培养液<sup>[19]</sup>, 直至培养到实验所需的藻体生物量。

**光质设计与藻体培养** 将预先同步化培养后的坛紫菜自由丝状体按同等质量 $[(10 \pm 0.06) \text{g}]$ 转入含有1500 mL灭菌MES培养液的2000 mL锥形培养瓶内。随后, 将培养瓶分别置于一个四周由不透光的黑色KT板密封的培养架内(长 $\times$ 宽 $\times$ 高 $=1.0 \text{ m} \times 0.5 \text{ m} \times 0.5 \text{ m}$ ), 在不同光质(蓝光、红

光、绿光和白光)条件下, 采用 $\text{CO}_2$ 充气培养, 每种单色光设置3个平行组, 其中白光为对照组。所有发光光源是功率为11W的LED灯, 其中绿光波长范围510~550 nm (图1-a), 蓝光波长范围455~475 nm (图1-b), 红光波长范围580~630 nm (图1-c), 白光波长范围400~760 nm (图1-d)。调节灯管的数量和照射高度, 使各组的光照强度控制在 $(20 \pm 2) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 光强和波长用PLA-20植物光照分析仪进行测定。其他培养条件为光周期12 L : 12 D, 温度 $(24 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 盐度30。每隔5 d更换1次MES培养液, 并称量藻体鲜重, 培养时间为25 d。

**生长测定和显微观察** 根据更换营养液频率, 每5 d测定各组样品的特定生长率(specific growth rate, SGR), 其计算公式:

$$\text{SGR}(\%) = 100 \times (\ln S_T - \ln S_{T-1}) / 5$$

式中,  $S_T$ 为第 $T$ 天藻体鲜重,  $S_{T-1}$ 代表前一次藻体鲜重。

采用Leica DMI8光学显微镜(德国莱卡公司)对不同培养时期的自由丝状体进行形态观察和

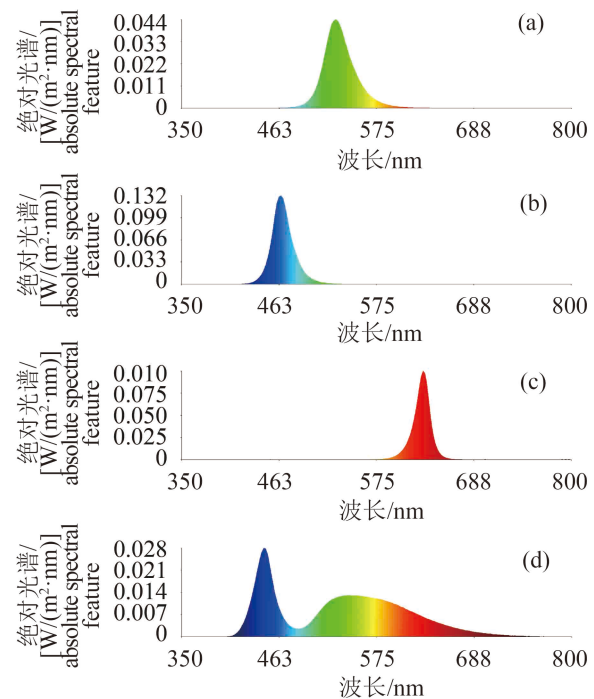


图1 不同光质的绝对光谱特征

(a) 绿光; (b) 蓝光; (c) 红光; (d) 白光

Fig. 1 Absolute spectral features of different light qualities

(a) green light, GL; (b) blue light, BL; (c) red light, RL; (d) white light, WL

显微拍照。

**主要光合色素和藻胆蛋白含量测定** 精确称量100 mg新鲜藻体，暗光条件下置于甲醇(100%)溶液中研磨粉碎。充分研磨后放入4 °C冰箱过夜，次日经Eppendorf5804 R离心机高速离心(10 000 r/min, 4 °C, 10 min)取上清液，用紫外可见分光光度计(UV-3200)测定样本的吸光度。按照Porra<sup>[20]</sup>和Parsons等<sup>[21]</sup>报道的方法分别测定叶绿素*a*和类胡萝卜素含量。具体公式：

$$\text{叶绿素 } a \text{ (}\mu\text{g/g)} = 16.29 \times (\text{OD}_{665} - \text{OD}_{750}) - 8.54 \times (\text{OD}_{652} - \text{OD}_{750})$$

$$\text{类胡萝卜素 (}\mu\text{g/g)} = 7.6 \times [(\text{OD}_{480} - \text{OD}_{750}) - 8.54 \times (\text{OD}_{510} - \text{OD}_{750})]$$

**藻胆蛋白测定步骤：**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，4 °C避光过夜，19 000 r/min离心15 min，取上清液。采用紫外可见分光光度计测定样品上清液在455、564、592、618、645 nm的吸光度。按照Beer等<sup>[22]</sup>报道的方法计算藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC)含量，具体公式：

$$\text{PE (mg/g)} = \frac{[(A_{564} - A_{592}) - 0.20 \times (A_{455} - A_{592})]}{\text{DW}} \times V$$

$$\text{PC (mg/g)} = \frac{[(A_{618} - A_{645}) - 0.51 \times (A_{592} - A_{645})]}{\text{DW}} \times V$$

式中，*V*代表抽提量，DW为藻体干重(g)。

**碳酸酐酶和1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶活性的测定** 参照Haglund等<sup>[23]</sup>的方法测定样本材料的碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)活性。参照Sulpice等<sup>[24]</sup>报道的非放射性微孔板法测定样本的1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(ribulose biphosphate carboxy-lase, RubisCO)活性，所有处理样品经温化孵育后用Infinite® 200 Pro NanoQuant酶标仪(瑞士帝肯公司)测定其在450 nm处的吸光度，并绘制标准曲线，计算样品酶活性。

**数据分析** 采用Excel 2007计算实验数据并统计作图。SPSS 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，数据以平均值±标准差表示。

## 2 结果

### 2.1 生长曲线与特定生长率

在5 d之前，不同光质处理下的坛紫菜自由丝状体都处于较快生长状态，其中白光下藻体的生长速率最快，明显大于蓝光、红光和绿光

下藻体的特定生长率(*P*<0.05)。然而，培养5 d后各实验组藻体生长开始出现差异，白光和蓝光下藻体呈现趋于一致的特定生长率，且生长速率明显快于其他实验组(*P*<0.05)。在15 d后蓝光下藻体逐渐呈现出明显的生长优势(*P*<0.05)，而20 d后绿光下藻体生长减缓，红光下藻体的特定生长率甚至开始出现负增长。培养25 d时，比较不同光质条件下藻体增重情况，发现蓝光下藻体增重最多，白光次之，红光下藻体增重最少。蓝光下藻体增重分别是白光、绿光、红光下藻体增重的1.10倍、1.82倍和2.17倍(*P*<0.05)(图2, 图3)。

### 2.2 生长形态变化

光质对坛紫菜自由丝状体的生长形态存在

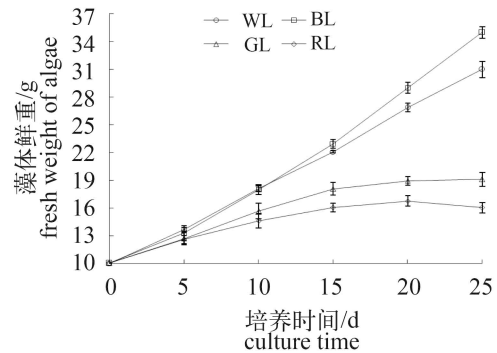


图2 坛紫菜自由丝状体在不同光质条件下的生长曲线

Fig. 2 Growth curves of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

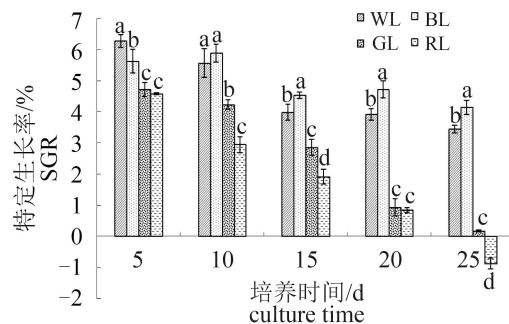


图3 坛紫菜自由丝状体在不同光质条件下的特定生长率

不同字母表示同一时间内组间差异显著, (*P*<0.05), 下同

Fig. 3 The SGR of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

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



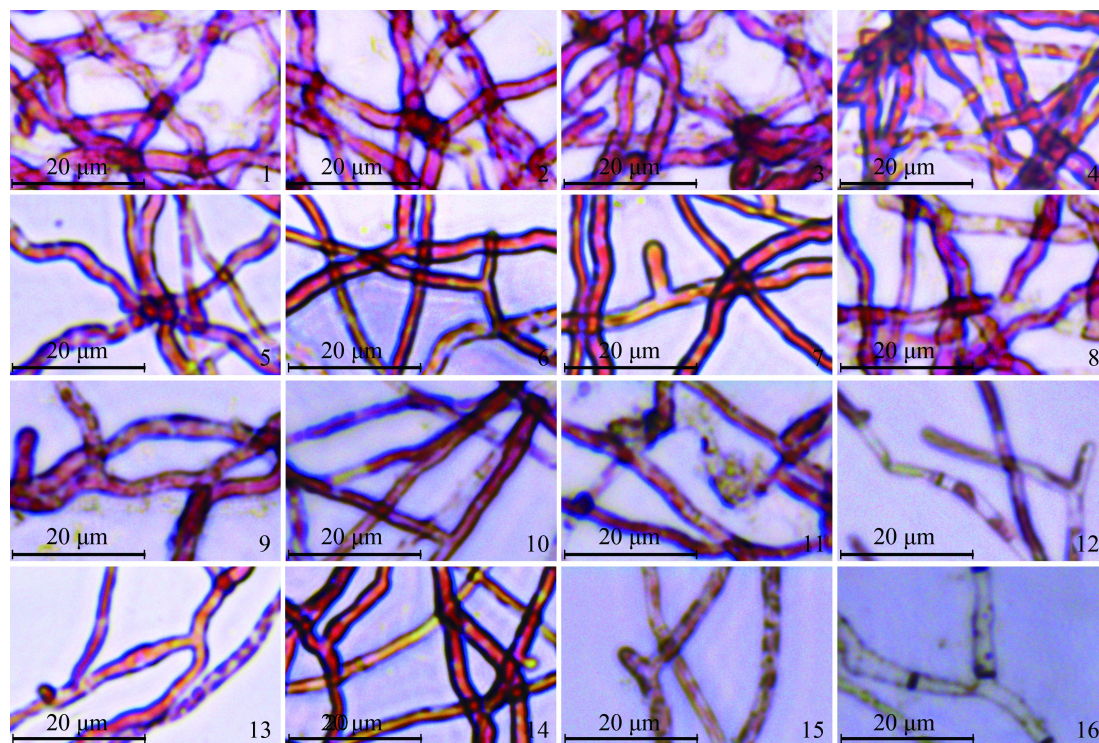
影响。培养初期的藻体细胞皆呈长条形排布, 星状色素体大部分聚集在中央部位, 少部分色素体弥散在四周, 藻体色泽饱满鲜红(图版-1~4)。但随着藻体培养的进行, 其色泽和色素体等细胞内含物的分布逐渐发生变化。培养5 d时, 蓝光和白光下藻体处于正常生长(图版-5~6), 而绿光下藻体的色泽略微暗淡, 少量细胞色素体呈现浅黄色(图版-7), 且红光下少量藻体的细胞色素体色泽开始暗淡, 细胞内容物外溢(图版-8)。培养15 d时, 蓝光和白光下藻体仍保持正常生长, 藻体色泽鲜红(图版-9~10), 绿光下部分藻体的色素体分解, 内含物溢出(图版-11), 红光下藻体的细胞色素体数量明显减少, 少数细胞中空(图版-12)。培养25 d后, 绿光和红光下藻体褪色严重, 其中红光下的大部分藻体已变成灰白色, 细胞内容物大量溢出, 完全呈现中空状态, 伴有腐烂现象(图版-15~16), 而蓝光和白光培养

下藻体的色泽鲜红, 星状色素体清晰可见, 与初始培养藻体相比无明显变化(图版-13~14)。

### 2.3 主要光合色素与藻胆蛋白含量

培养25 d后, 不同光质培养的坛紫菜自由丝状体的主要光合色素含量存在差异。蓝光促进光合色素的积累, 蓝光下藻体的叶绿素 $a$ 和类胡萝卜素含量明显高于其他实验组( $P<0.05$ ), 其叶绿素 $a$ 分别较白光、绿光和红光下藻体提高13.77%、47.69%和63.42%, 且其类胡萝卜素含量分别较白光、绿光和红光下藻体提高8.87%、87.07%和97.73%。红光和绿光下藻体的叶绿素 $a$ 含量有显著性差异( $P<0.05$ ), 但二者的类胡萝卜素含量无显著性差异( $P>0.05$ )(图4)。

对不同光质条件下藻体合成的藻胆蛋白含量进行比较。藻红蛋白含量在各组间存在差异, 白光和蓝光有利于藻红蛋白的合成, 其藻体的



图版 坛紫菜自由丝状体在不同光质条件下的生长形态观察

1、5、9、13分别代表坛紫菜自由丝状体在白光条件下培养0、5、15、25 d的显微照; 2、6、10、14分别代表坛紫菜自由丝状体在蓝光条件下培养0、5、15、25 d的显微照; 3、7、11、15分别代表坛紫菜自由丝状体在绿光条件下培养0、5、15、25 d的显微照; 4、8、12、16分别代表坛紫菜自由丝状体在红光条件下培养0、5、15、25 d的显微照

#### Plate Observations on morphogenesis of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

1, 5, 9, 13 standing for photomicrographs of free living conchocelis of *P. haitanensis* under WL for 0, 5, 15, 25 d, respectively; 2, 6, 10, 14 standing for photomicrographs of free living conchocelis of *P. haitanensis* under BL for 0, 5, 15, 25 d, respectively; 3, 7, 11, 15 standing for photomicrographs of free living conchocelis of *P. haitanensis* under GL for 0, 5, 15, 25 d, respectively; 4, 8, 12, 16 standing for photomicrographs of free living conchocelis of *P. haitanensis* under RL for 0, 5, 15, 25 d, respectively

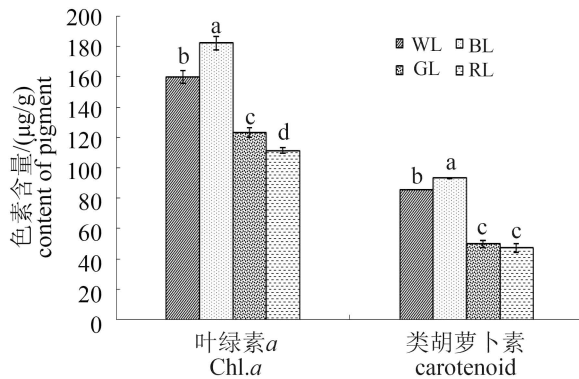


图4 不同光质培养条件下坛紫菜自由丝状体的叶绿素a和类胡萝卜素含量

Fig. 4 The contents of Chl.a and carotenoid of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

藻红蛋白含量最高, 绿光次之, 而红光下的藻体藻红蛋白含量最低( $P < 0.05$ )。但各组间藻体的藻蓝蛋白含量差异不明显( $P > 0.05$ )(图5, 图6)。

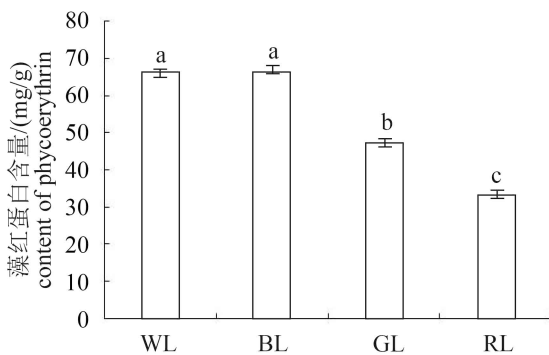


图5 不同光质培养条件下坛紫菜自由丝状体的藻红蛋白含量

Fig. 5 The contents of phycoerythrin of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

## 2.4 CA和RubisCO活性

不同光质对坛紫菜自由丝状体光合作用过程的CA和RubisCO活性具有一定影响。蓝光下藻体的CA活性明显高于白光、绿光和红光下藻体的CA活性( $P < 0.05$ ), 但后三者之间的CA活性不存在显著性差异( $P > 0.05$ )。蓝光下藻体的CA活性较白光下藻体的CA活性提高了11.36%。同时, 与白光下藻体的RubisCO活性比较, 蓝光、绿光和红光下藻体的RubisCO活性增加, 其中蓝光、绿光下藻体的RubisCO活性增加较明显, 分别提

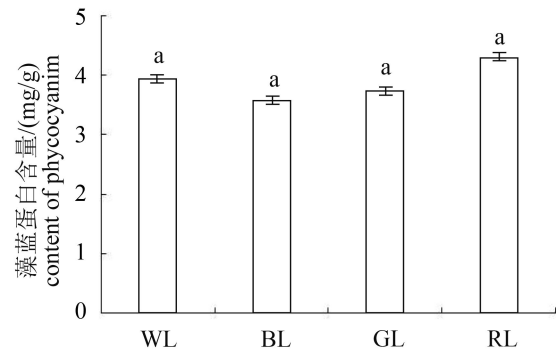


图6 不同光质培养条件下坛紫菜自由丝状体的藻蓝蛋白含量

Fig. 6 The contents of phycocyanin of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

高28.17%和61.21%。红光下藻体的RubisCO活性虽有增加, 但与对照组间无显著性差异( $P > 0.05$ )(图7, 图8)。

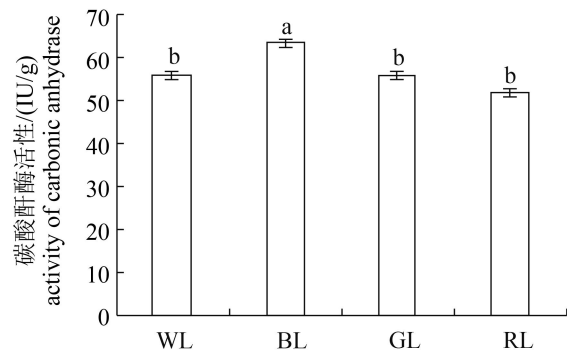


图7 不同光质条件下坛紫菜自由丝状体的CA活性

Fig. 7 Carbonic anhydrase activity of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

## 3 讨论

光是植物生长发育过程中最重要的环境因子之一, 除为植物光合作用提供能源外, 还作为一种触发信号, 对植物的形态建成、光合特性、生理代谢等有着广泛的调控作用<sup>[7]</sup>。植物体内的大部分生物合成过程也都能通过改变光质进行调节<sup>[25]</sup>, 许多研究也证明, 不同波长的光源不仅会直接影响藻类生长, 也会影响其光合色素的组成和结构<sup>[14-18]</sup>。本研究表明, 蓝光明显有利于坛紫菜自由丝状体的生长, 其增重率和后期的特定生长率最大, 这与对海带(*Saccharina*

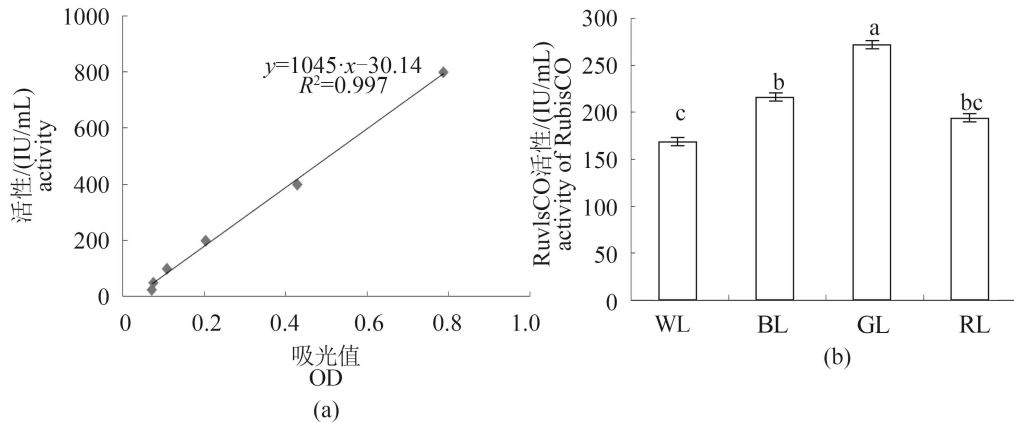


图 8 不同光质条件下坛紫菜自由丝状体的RubisCO活性

(a) RubisCO标准曲线; (b) RubisCO活性

Fig. 8 RubisCO activity of free living conchocelis of *P. haitanensis* under different light qualities

(a) The standard curve of RubisCO; (b) The activity of RubisCO

*japonica*)的配子体<sup>[10]</sup>和幼孢子体<sup>[11]</sup>、裙带菜(*Undaria pinnatifida*)配子体<sup>[12]</sup>、扁浒苔(*Ulva compressa*)<sup>[13]</sup>、多瘤哈斯来藻(*Haslea ostrearia*)<sup>[26]</sup>和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)<sup>[27]</sup>等的研究结果类似。然而, Gabriel等<sup>[28]</sup>发现, 8种底栖硅藻在白光和蓝光培养条件下的生长率无明显差异, 蓝光诱导还会延迟莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的细胞分裂<sup>[29]</sup>。对于红藻而言, 一些学者也发现相比于白光, 绿光比红光和蓝光更有利于海膜(*Halymenia floresii*)的生长<sup>[15]</sup>; 蓝光并不能提高条斑紫菜(*P. yezoensis*)叶状体的生长率<sup>[14]</sup>; 甚至红光对脐形紫菜(*P. umbilicalis*)叶状体<sup>[14]</sup>、帚状江蓠(*Gracilaria edulis*)<sup>[16]</sup>、江蓠(*G. fisheri*)<sup>[17]</sup>和角叉菜(*Chondrus ocellatus*)<sup>[30]</sup>的促生长作用明显优于蓝光, 但蓝光亦可以明显提高其可溶性蛋白、叶绿素 $a$ 、藻胆蛋白合成量及光合反应的酶活性。这种差异可能是由于藻类光合色素系统可以吸收可见光内所有波段的光谱成分<sup>[31]</sup>, 而自然界中藻体因所处的海洋潮位不同, 不同藻类之间的光合色素组成与含量存在差异, 致使栖息在不同水层藻类的光受体对光的捕获存在多样化选择, 且不同藻类在适应各自生活环境过程中也会形成不同的光适应机制<sup>[32]</sup>。此外, 除红藻种类之间的差异外, 不同的光源和实验方法也可能造成这种差异性, 相关研究亦表明, 坛紫菜的叶状体与丝状体的光合色素含量就存在明显差异<sup>[33]</sup>, 这是否是由在生活史不同阶段的坛紫菜对光谱成分的吸收差异引起的, 还有待于

进一步研究。

光合色素是藻类进行光合作用的物质基础, 能够吸收、传递和转换光能, 其光能传递途径依次为藻胆蛋白→类胡萝卜素→叶绿素。在光合作用过程中叶绿素 $a$ 直接参与光反应, 而类胡萝卜素和藻胆蛋白作为辅助色素将吸收的光能传递给叶绿素 $a$ 用于光合反应, 因此其含量与组成直接影响藻体的光合速率<sup>[34]</sup>。大量研究证实, 光质不仅与藻类生长与繁殖有直接联系, 还会对光合色素含量<sup>[14-17, 35]</sup>和酶活性<sup>[36]</sup>产生相应的影响。本实验中蓝光条件培养坛紫菜自由丝状体的叶绿素 $a$ 含量明显高于其他处理组, 这说明蓝光更有利于叶绿素 $a$ 的积累, 提高了藻体的光合反应速率。红光和绿光均不利于坛紫菜自由丝状体生长, 尤其是红光培养下藻体的特定生长率、叶绿素 $a$ 、藻胆蛋白含量明显低于白光组, 这与对中华盒形藻(*Biddulphia sinensis*)的研究结果类似<sup>[37]</sup>, 但藻蓝蛋白合成量不受光质变化影响, 这与对石花菜(*Gelidium sesquipedale*)<sup>[38]</sup>和*Porphyra leucosticta*<sup>[39]</sup>的研究结果一致。另外, 藻类光系统PS I和PS II的主要功能差异是由它们的色素组分和所吸收光谱之间的差异造成的, 叶绿素与PS I, 藻胆蛋白与PS II有着紧密的关联性<sup>[40]</sup>。不同光质条件下, 藻体光合色素的差异变化可能致使PS I和PS II在光合电子传递及转换速率方面存在差异性, 从而影响藻体光合效率与藻体生长, 至于光质影响光合电子传递机制仍需进一步研究。



RubisCO和CA是植物光合作用过程的两个关键限速酶,可以调节光反应的CO<sub>2</sub>同化和光呼吸、决定净光合速率<sup>[41-42]</sup>。相关研究表明,蓝光培养可促进多细胞的强壮团藻(*Volvox carteri*)中与光合反应相关基因的表达上调<sup>[43]</sup>,还可诱导莱茵衣藻CA基因<sup>[44]</sup>及高等植物大豆(*Glycine max*)突变体Rubis CO基因增量表达<sup>[45]</sup>。本实验中,蓝光培养下的坛紫菜自由丝状体CA和RubisCO活性均高于对照组,这可能有利于光合作用的碳同化,从而大量合成光合色素,提高光合速率,直接体现出藻体的鲜重增加。植物中的CA最重要的功能之一是为RubisCO提供无机碳源<sup>[46]</sup>,本实验中绿光和红光下藻体在培养后期的特定生长率降低甚至负增长,生长形态欠佳,但其RubisCO却保持着较高的酶活性,这可能是藻体为适应逆境胁迫(不适宜的光照条件)而大量诱导RubisCO以维持机体基本的碳同化和生理代谢需求。光质对所有光合藻类的光合作用有着重要影响,本实验中的坛紫菜自由丝状体在蓝光培养下比白光培养下的生长速率更快,光合色素合成量较高,呈现出明显的促生长效应。因此,精确调制LED光源,适量增加蓝光组分,制作出最适宜于坛紫菜自由丝状体无性扩繁的复合LED光源将有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 福建省水产局. 坛紫菜人工养殖[M]. 福州: 福建人民出版社, 1979: 1-101.  
Fisheries Bureau of Fujian Province. Artificial culture of *Porphyra haitanensis*[M]. Fuzhou: Fujian People's Publishing House, 1979: 1-101(in Chinese).
- [2] 曾呈奎, 王素娟, 刘思俭, 等. 海藻栽培学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 55-121.  
Tseng C K, Wang S J, Liu S J, et al. Cultivation of Seaweed[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1985: 55-121(in Chinese).
- [3] 汤晓荣, 费修纛. 光温与坛紫菜自由丝状体生长发育的关系[J]. 海洋与湖沼, 1997, 28(5): 475-482.  
Tang X R, Fei X G. Relationship between light, temperature and growth, development of conchocelis of *Porphyra haitanensis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1997, 28(5): 475-482(in Chinese).
- [4] 林汝榕, 刑炳鹏, 柯秀蓉, 等. 坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)丝状藻体生长增殖的优化调控培养条件研究[J]. 应用海洋学学报, 2014, 33(2): 275-283.  
Lin R R, Xing B P, Ke X R, et al. Study on optimal growth conditions for conchocelis culture of *Porphyra haitanensis*[J]. Journal of Applied Oceanography, 2014, 33(2): 275-283(in Chinese).
- [5] 陈国宜. 关于坛紫菜自由丝状体的培养和直接采苗的研究[J]. 水产学报, 1980, 4(1): 19-29.  
Chen G Y. A study on the culture of free-living filaments and direct spore-collecting of *Porphyra haitanensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 1980, 4(1): 19-29(in Chinese).
- [6] 孙霖清, 李琳, 刘长军, 等. 坛紫菜自由丝状体移植育苗的初步研究[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(5): 709-714.  
Sun M Q, Li L, Liu C J, et al. Study on conchocelis seeding with transplanting free-living conchocelis in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(5): 709-714(in Chinese).
- [7] 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).
- [8] 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.
- [9] 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.
- [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] Wang W J, Sun X T, Wang G C, et al. Effect of blue light on indoor seedling culture of *Saccharina japonica* (Phaeophyta)[J]. Journal of Applied Phycology, 2010, 22(6): 737-744.
- [12] 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.
- [13] Kuwano K, Abe N, Nishi Y, *et al.* Growth and cell cycle of *Ulva compressa* (Ulvoephyceae) under LED illumination[J]. *Journal of Phycology*, 2014, 50(4): 744-752.
- [14] 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.
- [15] Godínez-Ortega G 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.
- [16] 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.
- [17] Nguyen P T, Ruangchuay R, Lueangthuwapranit C. Effect of shading colours on growth and pigment content of *Gracilaria fisheri* (Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia (Gracilariales, Rhodophyta)[J]. *Aquaculture Research*, 2016, doi: 10.1111/are.12954.
- [18] 曹刚, 张国斌, 郁继华, 等. 不同光质LED光源对黄瓜苗期生长及叶绿素荧光参数的影响[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(6): 1297-1304.
- Cao G, Zhang G B, Yu J H, *et al.* Effects of different LED light qualities on cucumber seedling growth and chlorophyll fluorescence parameters[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(6): 1297-1304(in Chinese).
- [19] 王素娟, 张小平, 徐志东, 等. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 I [J]. *海洋与湖沼*, 1986, 17(3): 217-221.
- Wang S J, Zhang X P, Xu Z D, *et al.* A study on the cultivation of the vegetative cells and protoplasts of *Pyropia haitanensis* I.[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1986, 17(3): 217-221(in Chinese).
- [20] 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(1): 149-156.
- [21] 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(3): 155-163.
- [22] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae[J]. *Marine & Freshwater Research*, 1985, 36(6): 785-792.
- [23] Haglund K, Björk M, Ramazanov Z, *et al.* Role of carbonic anhydrase in photosynthesis and inorganic-carbon assimilation in the red alga *Gracilaria tenuistipitata*[J]. *Planta*, 1992, 187(2): 275-281.
- [24] Sulpice R, Tschoep H, von Korff M, *et al.* Description and applications of a rapid and sensitive non-radioactive microplate-based assay for maximum and initial activity of D-ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase [J]. *Plant, Cell & Environment*, 27, 30(9): 1163-1175.
- [25] 沈银武, 朱运芝, 刘永定. 不同光质对中华植生藻的影响[J]. *水生生物学报*, 1999, 23(3): 285-287.
- Shen Y W, Zhu Y Z, Liu Y D. Effects of different light quality on *Richelia sinica*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, 23(3): 285-287(in Chinese).
- [26] Mouget J L, Rosa P, Tremblin G. Acclimation of *Haslea ostrearia* to light of different spectral qualities-confirmation of 'chromatic adaptation' in diatoms[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2004, 75(1-2): 1-11.
- [27] 苗洪利, 孙丽娜, 田庆震, 等. LED单色光谱及复合光谱对赤潮优势种中肋骨条藻生长的作用[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2011, 41(10): 107-110.
- Miao H L, Sun L N, Tian Q Z, *et al.* Effects of monochromatic and combination spectra of LED on the growth of the *Skeletonema costatum* in red tide[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2011, 41(10): 107-110(in Chinese).
- [28] Gabriel C R J, Del Pilar Sánchez-Saavedra M, Siqueiros-Beltrones D, *et al.* Isolation and growth of eight strains of benthic diatoms, cultured under two light conditions[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2001, 20(2): 603-610.
- [29] Münzner P, Voigt J. Blue light regulation of cell division in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Physiology*, 1992, 99(4): 1370-1375.
- [30] 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.
- [31] López-Figueroa F. Diurnal variation in pigment content in *Porphyra laciniata* and *Chondrus crispus* and its relation to the diurnal changes of underwater light quality and quantity[J]. Marine Ecology, 1992, 13(4): 285-305.
- [32] Rüdiger W, López-Figueroa F. Photoreceptors in algae[J]. Photochemistry and Photobiology, 1992, 55(6): 949-954.
- [33] 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.  
Li Y X. Comparative study of pigmentary system of photosynthesis on three red algae[D]. Qingdao: Graduate University of Chinese Academy of Sciences (Marine Research Institute), 2007(in Chinese).
- [34] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. Japan Journal of Phycology, 1984, 32: 333-347.
- [35] Sánchez-Saavedra M P, Voltolina D. Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures[J]. Ciencias Marinas, 2002, 28(3): 273-279.
- [36] Steinbrenner J, Linden H. Light induction of carotenoid biosynthesis genes in the green alga *Haematococcus pluvialis*: regulation by photosynthetic redox control[J]. Plant Molecular Biology, 2003, 52(2): 343-356.
- [37] 王伟. 光质对中华盒形藻生长及生化组成的影响[J]. 武汉植物学研究, 1999, 17(3): 197-200.  
Wang W. Effect of light quality on growth and biochemical compositions of a diatom *Biddulphia sinensis*[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1999, 17(3): 197-200(in Chinese).
- [38] 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.
- [39] Korbee N, Figueroa F L, Aguilera J. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2005, 80(2): 71-78.
- [40] Satoh H, Fork D C. A new mechanism for adaptation to changes in light intensity and quality in the red alga, *Porphyra perforata* II. Characteristics of state II-state III transitions[J]. Photosynthesis Research, 1983, 4(1): 61-70.
- [41] 曾晓鹏, 夏建荣. 光强对两种硅藻光合作用、碳酸酐酶和RubisCO活性的影响[J]. 水生生物学报, 2015, 39(2): 368-374.  
Zeng X P, Xia J R. Effects of light intensities on photosynthesis, carbonic anhydrase and Rubisco activity in two diatoms[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(2): 368-374(in Chinese).
- [42] Badger M R, Price G D. The role of carbonic anhydrase in photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 2003, 45(1): 369-392.
- [43] Kianianmomeni A. Cell-type specific light-mediated transcript regulation in the multicellular alga *Volvox carterii*[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1):1-14.
- [44] Dionisio-Sese M L, Fukuzawa H, Miyachi S. Light-Induced carbonic anhydrase expression in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Plant Physiology, 1990, 94(3): 1103-1110.
- [45] Eskins K, Jiang C Z, Shibles R. Light-quality and irradiance effects on pigments, light-harvesting proteins and Rubisco activity in a chlorophyll-and light-harvesting-deficient soybean mutant[J]. Physiologia Plantarum, 1991, 83(1): 47-53.
- [46] 乔醒. 水稻功能叶碳酸酐酶活性及其转录调控[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.  
Qiao X. Carbon anhydrase activity and its transcriptional regulation in the functional leaves of rice (*Oryza sativa* L.)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013(in Chinese).

## Effects of different light-qualities on growth and physiological characteristics of free living conchocelis of *Pyropia haitanensis*

HAN Junjun<sup>1</sup>, ZHONG Chenhui<sup>2,3</sup>, HE Peimin<sup>1</sup>, YU Kefeng<sup>1</sup>, LIN Qi<sup>2,3\*</sup>

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

2. Fisheries Research Institute of Fujian Province, Xiamen 361013, China;

3. Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Xiamen 361013, China)

**Abstract:** The influences of different light qualities (green 510-550 nm, blue 455-475 nm, red 580-630 nm, white 400-760 nm) from light-emitting diode (LED) illuminations on the growth and physiological characteristics of wild free-living conchocelis of *Pyropia haitanensis* were studied. Results showed that blue light (BL) significantly promoted the growth rate of conchocelis in the cultures. The weight increments of conchocelis under BL were 1.10, 1.82, 2.17 times higher than those of other conchocelis cultured under white light (WL), green light (GL) and red light (RL), respectively. BL stimulated the synthesis of chlorophyll *a* and carotenoids. Compared to WL, GL and RL, the contents of chlorophyll *a* in BL were increased by 13.77%, 47.69%, 63.42%, respectively, and the contents of carotenoids in BL were increased by 8.87%, 87.07%, 97.73%, respectively. BL and WL were conducive to synthesize phycoerythrin rather than GL and RL. However, there were no significant differences of phycocyanin contents between the conchocelis in the cultures under different LED light qualities. Moreover, BL resulted in the highest activity of carbonic anhydrase, which enhanced by 11.36% than those of WL. Compared to WL, both BL and GL significantly stimulated the activity of ribulose biphosphate carboxylase, which enhanced 28.17% and 61.21%, respectively. In the late growth stage, the conchocelis cultured under RL and GL were discolored and short of satellite chromatophore, even parts of them overflowed their cell inclusions and were hollowed. Whereas, conchocelis under BL and WL were normal, healthy and bright red. Therefore, we could add suitable component of blue-light, and decrease red-light and green-light in the asexual propagation of free-living conchocelis in *P. haitanensis*.

**Key words:** *Pyropia haitanensis*; free-living conchocelis; light quality; growth; physiological characteristics

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

**Funding projects:** Seed Industry Innovation and Industrialization Project of Fujian Province (2014S1477-10); Natural Science Foundation of Fujian Province (2014J01095); Special Funds for Marine High and New Industry Development of Fujian Province (Marine High-tech of Fujian 2014-19); Special Funds for Marine and Fishery Structure Adjustment; Marine Economy Innovation and Area Development Demonstration Project of Fujian Province (2014FJPT01); Southern Oceanographic Center Project of Xiamen (14PZY017NF17, 15GZY021NF04)