

刘树文,牟丹敏. 不同光质对葛仙米的生理影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(6):152-155.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.06.039

不同光质对葛仙米的生理影响

刘树文, 牟丹敏

(贵州师范学院化学与生命科学学院, 贵州贵阳 550018)

摘要:比较红光、蓝光、白光 3 种不同的光质对人工培育葛仙米(*Nostoc sphaeroides* Kützinger)的生理影响。结果表明:不同颜色的光对葛仙米的生长、光合色素、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量均有影响。葛仙米以叶绿素含量表示的总生物量以及比生长速率大小顺序为红光>白光>蓝光;叶绿素 a、类胡萝卜素、藻蓝蛋白含量大小顺序为红光>白光>蓝光;别藻蓝蛋白、藻红蛋白含量大小顺序为白光>红光>蓝光;类胡萝卜素、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、藻红蛋白与叶绿素 a 含量的比值大小顺序为蓝光>白光>红光;葛仙米可溶性蛋白含量大小顺序为蓝光>白光>红光;可溶性糖含量大小顺序为红光>白光>蓝光。因此,在葛仙米的人工养殖过程中,应结合实际需要选择不同的光质作为光源。

关键词:葛仙米;光质;生理影响

中图分类号: S968.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)06-0152-03

拟球状念珠藻(*Nostoc sphaeroides* Kützinger)别称葛仙米,是一种生长在我国极少数山区水稻田中的念珠藻,属多细胞蓝藻,具有较高的食用价值和食疗保健的药用价值^[1-2]。葛仙米因晋朝的道教伦理学家、医学家、炼丹家葛洪的名字及其经历而命名,是中国出口的一种传统珍贵野生食品,在《本草纲目》《本草纲目拾遗》中对其均有记载^[1-3]。近年来由于农民施用化肥及除草剂等农药,改变了葛仙米赖以生存的生长环境,导致葛仙米产量急剧降低,甚至有绝迹的可能^[4],这些都将影响这一珍贵野生食品的开发和利用。为了让更多的人品尝到这种珍稀藻类,首先应该采取适当的措施保护好葛仙米的野生资源,使其脱离濒临灭绝的危险;同时进行开发研究,最终走广泛和深层次的产业化培养葛仙米的道路^[1-2]。近年来,一些科研工作者开展了关于葛仙米的人工养殖研究。

光照是影响藻类光合作用效率的重要环境条件,在藻类人工培养过程中通常需要合理的光照度和光照周期。然而,许多研究表明,不同颜色的光(光质)对藻类的生长及生理也会产生较大的影响。Aidar 等发现微小环藻(*Cyclotella caspia*)在蓝光下生长速率最高,而亚心形扁藻(*Tetraselmis gracilis*)在红光下生长较快^[5];Wang 等发现红光能够提高钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)的比生长速率,而该藻在蓝光下光量子转换成生物量的效率最低^[6];Das 等研究发现,蓝光能够提高微拟球藻(*Nannochloropsis* sp.)的比生长速率,而红光下微拟球藻的比生长速率最低^[7];毛安君采用单色 LED 光源和荧光灯从效率和速率 2 个角度研究了光源光谱对海生小球藻(*Chlorella vulgaris*)和等鞭金藻(*Isochrysis*)生长的影响,发现连续光谱能够促进最大生长率提高,蓝光促进生长的效率

较高,两者组合能够较好地兼顾效率和速率^[8]。因此,光质对人工培养的不同藻类会产生不同的生理影响。

蓝藻含有叶绿素 a(chlorophyll-a,简称 Chla)、类胡萝卜素(carotenoids,简称 Car)、藻蓝蛋白(phycoyanin,简称 PC)、藻红蛋白(phycoerythrin,简称 PE)和别藻蓝蛋白(allophycocyanin,简称 APC)等多种光合色素。叶绿素主要吸收 640~660 nm 的红光和 430~450 nm 的蓝紫光,类胡萝卜素主要吸收 400~500 nm 波长的光,PE、PC、APC 的最大吸收波长分别为 540~570、610~620、650~655 nm^[9]。关于光质对蓝藻葛仙米生理影响的相关研究较少。本研究通过测定 3 种不同的光质(白光、红光、蓝光)下葛仙米的比生长速率及各种光合色素、可溶性糖和可溶性蛋白含量,探讨 3 种不同的光质对葛仙米的生理影响,寻找适合葛仙米人工养殖的光质,为葛仙米的规模化养殖提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与培养条件

葛仙米采自贵州省岑巩县凯本乡沈家湾村的水稻田中。葛仙米的培养采用 BG₁₁₀ 培养基,在 121 ℃、1.05 kg/cm² 条件下灭菌 30 min。藻种经过匀浆之后,分别接种到 9 个高压灭菌的 500 mL 锥形瓶中,加入 450 mL BG-11₀ 培养基,初始接种量为 450 μg/mL 叶绿素。培养温度 26 ℃,用白光、红光、蓝光 3 种不同颜色的 LED 灯提供不同颜色的光照,3 种颜色光的光照度控制在 820 lx 左右,每种颜色的光照条件设置 3 个重复。用空气泵通入用 0.22 μm 滤膜过滤的无菌空气,通气量为 300 mL/min。

1.2 生长曲线的制作和比生长速率的测定

在葛仙米的生长的 0、2、4、6、8、10 d,于每天 12:00 在每瓶培养液中分别取 1 次藻液,藻液体积为 10 mL。离心 30 min,倒掉上清液,加入 3 mL 95% 乙醇,振荡,放入 4 ℃ 冰箱中过夜。4 000 r/min 离心 30 min 后,取上清液,用分光光度计测定 $D_{665\text{ nm}}$ 和 $D_{649\text{ nm}}$ 。叶绿素 a 含量按如下公式计算^[10]: Chla 含量(mg/L) = $13.95D_{665\text{ nm}} - 6.88D_{649\text{ nm}}$ 。比生长

收稿日期:2016-10-07

基金项目:国家自然科学基金地区基金(编号:31660115);贵州省科技厅项目(编号:黔科合 J 字[2013]2243 号);贵州师范学院博士项目(编号:12BS030)。

作者简介:刘树文(1980—),男,湖北黄冈人,博士,副教授,主要从事藻类生理生化研究。E-mail:1059834578@qq.com。

速率的计算根据公式: $\mu = (\ln X_1 - \ln X_2) / (T_{10} - T_0)$ 。式中: X_1 、 X_2 分别是 0、10 d 的叶绿素 a 含量, $\mu\text{g/L}$; T_{10} 、 T_0 分别表示 10、0 d。采用 Origin 7.0 软件绘制时间(天)、叶绿素含量($\mu\text{g/L}$)的生长曲线图。

1.3 各种主要光合色素含量的测定

各瓶葛仙米培养的 10 d,在培养光照颜色分别为白光、红光、蓝光的培养瓶中各取 20 mL 藻液,按照“1.2”节的方法取样和提取色素,用分光光度计测定 665、649、447 nm 波长的吸光度 $D_{665\text{ nm}}$ 、 $D_{649\text{ nm}}$ 、 $D_{470\text{ nm}}$ 。计算叶绿素 a 含量。因为葛仙米为蓝藻,不含叶绿素 b,因此类胡萝卜素含量计算依据以下公式^[10]:Car 含量 = $1\,000 \times D_{470\text{ nm}} - 2.05 \times \text{Chla}$ 含量。

在 10 d 时,另在培养光质分别为白光、红光、蓝光的培养瓶中各取 20 mL 藻液,4 000 r/min 离心 30 min,去上清液,各加入 4 mL 0.1 mol/L pH 值 7.0 的磷酸缓冲液,冰浴匀浆 90 次,4 000 r/min 离心 30 min。取上清液,用分光光度计测定上清液在 562、615、652 nm 波长的吸光度 $D_{562\text{ nm}}$ 、 $D_{615\text{ nm}}$ 和 $D_{652\text{ nm}}$ 。藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、藻红蛋白的含量根据 Siegelman & Kycia 的公式计算^[11]:PC 含量(mg/mL) = $(D_{615\text{ nm}} - 0.474D_{652\text{ nm}}) / 5.34$;APC 含量(mg/mL) = $(D_{652\text{ nm}} - 0.208 D_{615\text{ nm}}) / 5.09$;PE 含量(mg/mL) = $(D_{562\text{ nm}} - 2.41\text{PC 含量} - 0.849\text{APC 含量}) / 9.62$ 。

1.4 蛋白质含量的测定

各瓶葛仙米培养 10 d,按照“1.3”节提取 3 种藻胆蛋白的方法提取白光、红光、蓝光的培养瓶中葛仙米的可溶性蛋白,取上清液,用考马斯亮蓝法测定各样品中蛋白质的浓度^[10]。

1.5 可溶性糖含量的测定

培养 10 d 的葛仙米藻液各取 20 mL,4 000 r/min 离心 30 min,去上清液,各加入 4 mL 蒸馏水,冰浴匀浆 90 次,4 000 r/min 离心 30 min,提取得到葛仙米的可溶性糖。取上清液,用蒽酮试剂法测定各样品中可溶性糖浓度^[10]。

1.6 统计分析

本研究主要采用软件 Origin 7.0、STATISTICA® 7.0 (StatSoft Inc,Tulsa,OK,USA) 进行统计分析处理,采用单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 显著性检验(HSD)检测不同处理间的显著性水平。

2 结果与分析

2.1 不同光质条件下葛仙米的生长

图 1 表明,葛仙米分别在白光、红光和蓝光下培养 10 d 后,以叶绿素 a 浓度表示的生物量分别增加到第 1 天的 3.83 倍、4.98 倍及 1.91 倍。由表 1 可知,红光培养葛仙米的比生长速率最大,蓝光培养葛仙米的比生长速率最小,与白光培养葛仙米的比生长速率相比,红光培养的增加了 23.08%,但两者之间差异不显著(Tukey’s HSD);蓝光培养的降低了 53.85%,且差异显著(Tukey’s HSD, $P < 0.05$)。

2.2 不同光质条件下葛仙米的光合色素含量和比例的变化

由表 2、表 3 可知,红光培养的葛仙米 PC、Chla、Car 含量略高于白光培养的葛仙米,APC、PE 含量略低于白光培养的葛仙米,但都没有显著差异。蓝光培养的葛仙米的 PC、APC、PE、Chla、Car 含量都显著低于白光和红光培养的葛仙米($P < 0.05$)。红光培养的葛仙米的 PC、APC、PE、Chla、Car 含量分

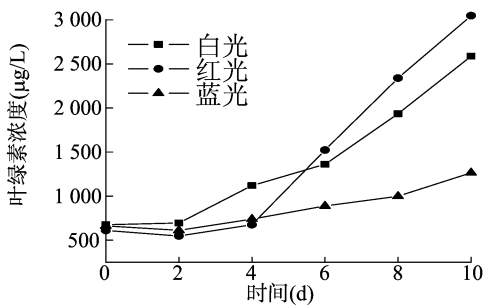


图1 葛仙米在不同光质条件下的生长曲线

表 1 不同光质条件下葛仙米的比生长速率

光质	比生长速率
白光	0.13 ± 0.00a
红光	0.16 ± 0.01a
蓝光	0.06 ± 0.01b

注:同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。下表同。

表 2 不同光质条件下葛仙米的 PC、APC、PE 含量

光质	PC 含量 (μg/mL)	APC 含量 (μg/mL)	PE 含量 (μg/mL)
白光	11.14 ± 1.53a	46.98 ± 9.86a	44.74 ± 6.33a
红光	12.19 ± 2.90a	46.82 ± 6.55a	36.39 ± 7.75a
蓝光	6.96 ± 0.62b	28.36 ± 2.12b	28.91 ± 2.53b

表 3 不同光质条件下葛仙米的叶绿素 a 和类胡萝卜素的含量

光质	叶绿素 a 含量 (μg/mL)	类胡萝卜素含量 (μg/mL)
白光	2.59 ± 0.39a	0.46 ± 0.08a
红光	3.05 ± 0.45a	0.52 ± 0.06a
蓝光	1.27 ± 0.08b	0.33 ± 0.07b

别为蓝光培养葛仙米的 175%、165%、126%、240%、158% ($P < 0.05$)。

由表 4 可知,蓝光和白光培养条件下,葛仙米的 PC、APC、PE、Car 含量与 Chla 含量的比值分别为红光培养葛仙米的 137%、182%、193%、153%和 107%、148%、146%、106%。

表 4 不同光质条件下葛仙米的 PC、APC、PE、Car 含量与 Chla 含量的比值

光质	PC/Chla	APC/Chla	PE/Chla	Car/Chla
白光	4.33 ± 0.57ab	18.17 ± 2.11a	17.39 ± 2.30ab	0.18 ± 0.00b
红光	4.03 ± 0.51b	12.30 ± 1.51b	11.88 ± 0.79b	0.17 ± 0.01b
蓝光	5.52 ± 0.76a	22.43 ± 1.98a	22.94 ± 3.17a	0.26 ± 0.04a

2.3 不同光质条件下葛仙米可溶性蛋白含量的变化

由图 2 可知,溶液中可溶性蛋白含量(y)与考马斯亮蓝染色后的可溶性蛋白溶液在 595 nm 波长下的吸光度(x)之间的直线方程为 $y = 1.2984x + 0.0072$ ($r^2 = 0.99$)。由图 3 可知,蓝光培养葛仙米的可溶性蛋白含量最高,分别为红光、白光培养葛仙米的 189%、161% ($P < 0.05$)。红光培养葛仙米的可溶性蛋白含量略低于白光培养葛仙米,但无显著差异。

2.4 不同光质条件下葛仙米可溶性糖含量的变化

由图 4 可知,溶液中可溶性糖含量(y)与蒽酮试剂染色后的可溶性糖溶液在 620 nm 波长下的吸光度(x)的直线方程为 $y = 1.5691x + 0.0941$ ($r^2 = 0.1882$)。由图 5 可知,红光

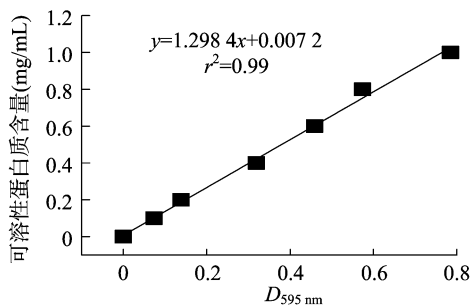
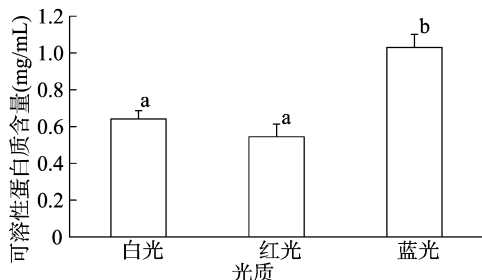


图2 不同光质培养条件下葛仙米可溶性蛋白标准曲线

不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。图5同
图3 不同光质培养条件下葛仙米的可溶性蛋白含量

培养葛仙米的可溶性糖含量最高,分别为白光、蓝光培养葛仙米的 122%、176% ($P < 0.05$)。红光培养葛仙米的可溶性糖含量略高于白光培养葛仙米。

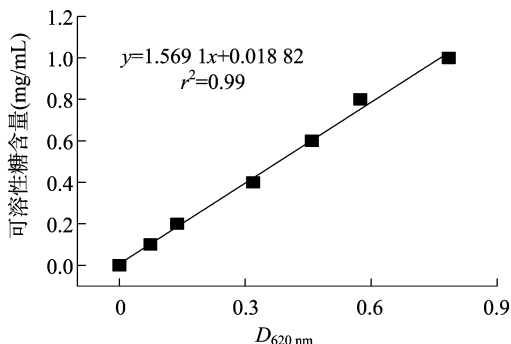


图4 不同光质培养条件下葛仙米可溶性糖标准曲线

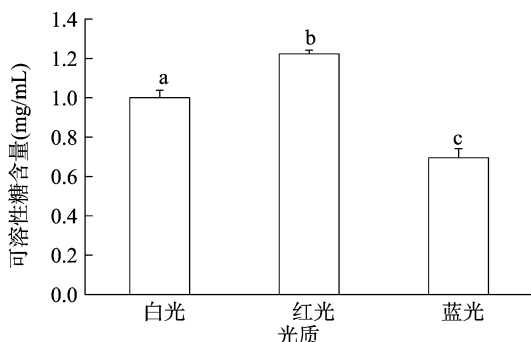


图5 不同光质培养条件下葛仙米可溶性糖含量

3 讨论与结论

不同的光质培养条件对葛仙米的生长产生不同的影响。红光培养条件下葛仙米的以叶绿素含量表示的总生物量及比生长速率最大,白光次之,蓝光最小,这表明红光对葛仙米的

生长最有利。Wang 等的研究结果也表明,红光培养条件下螺旋藻的生长最快^[6],与本研究的结论一致。然而,Das 等研究发现,蓝光能够提高微拟球藻 (*Nannochloropsis* sp.) 的比生长速率,而红光下微拟球藻的比生长速率最低^[7]。不同的藻类具有不同的光合色素组成,光合作用过程对光照颜色的要求也不同,如钝顶螺旋藻生长需要较低的光照度,而蓝光因为波长较短、能量较高而不利其生长,相反红光却能促进钝顶螺旋藻的生长^[12]。

蓝藻的眉藻 (*Calothrix*) 和点形念珠藻 (*Nostoc punctiforme*) 能通过改变藻细胞内各种光合色素的含量和比例来适应不同的光质条件,即“补色适应”现象^[12-14]。本研究的结论也表明,葛仙米在不同的光质培养条件下,各种光合色素的含量及比例发生变化,以此来适应不同的光质条件。葛仙米叶绿素 a、类胡萝卜素、藻蓝蛋白的含量大小顺序为红光 > 白光 > 蓝光。别藻蓝蛋白、藻红蛋白含量大小顺序为白光 > 红光 > 蓝光。然而,蓝光虽然抑制了培养液中葛仙米的各种光合色素含量的增加,但在蓝光培养条件下葛仙米的各种藻胆蛋白及类胡萝卜素与叶绿素含量的比值却升高。类胡萝卜素、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、藻红蛋白与叶绿素含量的比值大小顺序为蓝光 > 白光 > 红光。有研究表明,红光促进蓝藻藻蓝蛋白和叶绿素的合成,抑制藻红蛋白的合成^[15]。

葛仙米可溶性蛋白含量大小顺序为蓝光 > 白光 > 红光,而葛仙米可溶性糖含量大小顺序为红光 > 白光 > 蓝光。在红光下生长的葛仙米光合效率高,能产生更多的光合产物,有利于碳水化合物的积累^[15-16]。但蓝光波长短、能量高,容易对藻类产生光抑制伤害,不利于光合碳固定以及糖类的合成,但有利于可溶性蛋白含量的积累^[15-16]。王伟发现蓝光能够促进中华盒形藻蛋白质的合成,而红光下碳水化合物含量增加^[16],这与本研究的结论一致。

综上,红光有利于葛仙米的快速生长,不同的光质影响葛仙米的色素含量和比例。红光促进葛仙米可溶性糖的积累,而蓝光有利于可溶性蛋白的合成。葛仙米含有丰富的各种光合色素,具有较为广阔的开发应用前景,可作为天然色素在食品、化妆品、染料等工业领域应用,并可制成荧光试剂用于医学临床诊断和免疫学及生物工程等研究领域,还可制成食品和药品用于医疗保健^[17]。葛仙米含有 18 种氨基酸,含有人体必需的 8 种氨基酸,其多糖具有较好的保健作用^[17]。在葛仙米的人工养殖过程中应该根据实际需要选择不同颜色的光照。

参考文献:

- [1] 陈德文,汪兴平,潘思轶. 葛仙米的研究现状及应用前景[J]. 食品科学,2003,24(11):153-156.
- [2] 田志环,焦传珍. 葛仙米研究现状及其开发前景[J]. 食品研究与开发,2007,28(2):170-172.
- [3] 邓中洋,阎春兰,胡强,等. 葛仙米研究进展[J]. 水生生物学报,2008,32(3):393-399.
- [4] 陈珍. 农药和含氮肥对食用蓝藻葛仙米生长和光合作用的影响[D]. 武汉:华中师范大学,2007.
- [5] Aidar E, Ganesella - Galvo S, Sigaud T, et al. Effects of light quality on growth, biochemical composition and photo synthetic production in *Cyclotella caspia* Grunow and *Tetrasehis gracilis* (Kyllin) Butcher[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,1994,180(2):

郝俊,陈秋生,周民兰,等.喀斯特地区 2 种豆科灌木秋季单株可饲产量估测模型构建[J].江苏农业科学,2018,46(6):155-158.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.06.040

喀斯特地区 2 种豆科灌木秋季单株可饲产量估测模型构建

郝俊,陈秋生,周民兰,吴丽琴

(贵州大学动物科学学院,贵州贵阳 550025)

摘要:为构建喀斯特地区多花木兰、白刺花单株可饲产量估测模型,以其形态指标的株高、分枝数、基径、地径、平均冠幅直径等为变量,采用回归分析方法与其单株可饲产量作相关性分析。结果表明,多花木兰单株可饲产量分别与其株高、平均冠幅直径、基径、地径之间存在显著相关性,以此构建的单株可饲产量估测模型为 $y = -1.143 + 0.005x_1 + 0.002x_2 - 0.237x_3 + 0.606x_4$ (y 为单株可饲产量, x_1 为株高, x_2 为平均冠幅直径, x_3 为基径, x_4 为地径)。白刺花的单株可饲产量分别与其株高、冠幅、地径、分枝数显著相关,以此参数构建的单株可饲产量估测模型为 $y = -484.779 + 2.141x_1 + 3.939x_2 + 84.718x_3 + 19.565x_4$ (y 为单株可饲产量, x_1 为株高, x_2 为冠幅, x_3 为地径, x_4 为分枝数)。所建立的回归模型分析检验结果呈现极显著性,拟合度高。本试验为多花木兰、白刺花单株可饲产量提供简单的测定方法,为高效利用灌木提供了可靠的技术支撑,可以在不破坏原有植被的情况下对单株灌木可饲产量进行定量估测。

关键词:豆科灌木;估测模型;回归分析;单株可饲产量

中图分类号: S793.905 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)06-0155-04

生物量通常是指生态系统中生物组分单位面积上有机物质的质量或总量,直接反映了生态系统的物质生产量^[1]。生物量是植物群落最重要的数量特征之一,是生态系统生产力的重要体现,为研究生态系统的物质循环和能量流动提供了基本资料^[2]。灌木生物量作为灌木群落和生态系统研究的重要指标之一,是衡量植被生产力的重要指标,更是对畜牧业的发展有重要意义^[3-4]。测定灌木生物量主要有收获法和预

测模型法。收获法会对植被造成破坏,而预测模型法不仅能够避免对灌木造成破坏,而且可减少工作量,因此,采用易测因子建立灌木生物量预测模型是一种有效的测定灌木生物量方法^[3]。

贵州省饲用植物丰富,天然草地饲用灌木较多,如白刺花、紫穗槐、胡枝子、多花木兰等^[5]。多花木兰(*Indigofera amblyantha* Craib)、白刺花(*Sophora davidii*)是贵州喀斯特地区常见的优良豆科牧草和饲用灌木树种^[6-7],均耐旱、耐酸、耐瘠薄,生物量大,营养价值高,具有较高的药用价值^[8-13]。国内外对灌木生物量估测模型的研究逐渐增多,形式多样,但就建立植株多个指标与其单株可饲产量之间的回归模型的研究十分鲜见^[14]。且秋季灌木的生物量对于解决即将到来的冬季、春季饲草料短缺问题尤为重要。因此,本研究以贵州地区

收稿日期:2016-10-16

基金项目:贵州省留学人员科技创新项目[编号:黔人项目资助合同(2015)07];贵州大学引进人才项目[编号:贵大人基合字(2013)04]。

作者简介:郝俊(1984—),男,博士,讲师,主要从事草地管理、草产品加工方面的研究。E-mail:cauhaojun@126.com。

175-187.

[6] Wang C Y, Fu C C, Liu Y C. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis* [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, 37(1): 21-25.

[7] Das P, Wang L, Aziz S S, et al. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(4): 3883-3887.

[8] 毛安君. LED 光源促进微藻生长的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2007.

[9] Whitton B A, Potts M. The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space [M]. Springer, Dordrecht, 2000.

[10] 蔡庆生. 植物生理学实验 [M]. 北京:中国农业大学出版社, 2013: 54-55.

[11] Hellebust J A, Craigie J S. Handbook of phycological methods: physiological and biochemical methods [M]. London: Cambridge University Press, 1978: 71-79.

[12] Korb 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.

[13] Kehoe D M, Grossman A R. Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors [J]. *Science*, 1996, 273(5280): 1409-1412.

[14] Demarsac N T. Occurrence and Nature of chromatic adaptation in cyanobacteria [J]. *Journal of Bacteriology*, 1977, 130(1): 82-91.

[15] 王小琴. 铁限制及 *petE* 基因失活对蓝藻光合生理的影响 [D]. 武汉:华中师范大学生命科学院, 2015.

[16] 王伟. 光质对中华盒形藻生长及生化组成的影响 [J]. *植物科学学报*, 1999, 17(3): 197-200.

[17] 田志环. 稀有微藻葛仙米资源的研究与开发 [J]. *资源开发与市场*, 2007, 23(5): 450-451.