

光照强度对海黍子生长及部分生化指标的影响

詹冬梅 吴海一 刘梦侠 王翔宇 李美真*

(山东省海水养殖研究所, 青岛 266002)

摘要 在 20、40、80、120、200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照强度下, 研究了光照梯度对海黍子 *Sargassum muticum* 的生长及藻体部分生化指标的影响。结果表明, 在 80~200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照范围内时, 海黍子的特定生长率都比较高, 且无显著差异, 光照低于 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 后, 生长率下降, 显示了海黍子适宜较高光强的特性。叶绿素 a、可溶性蛋白、可溶性糖在光照 20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 下含量最高。褐藻多酚含量在光照 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ 时比其余光照条件下增加明显。此特性对于从海黍子中提取褐藻多酚天然产物具有一定的指导意义。

关键词 海黍子 光照 生长 化学组成

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)01-0140-05

Impact of irradiances on growth and biochemical composition of *Sargassum muticum*

ZHAN Dong-mei WU Hai-yi LIU Meng-xia

WANG Xiang-yu LI Mei-zhen*

(Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002)

ABSTRACT The main effects of irradiances (20, 40, 80, 120, 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$) on growth and biochemical composition of *Sargassum muticum* were studied indoors. Higher growth rates of *S. muticum* were observed at irradiance of 80~200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, and the maximum content of some biochemicals (chlorophyll-a, chlorophyll-b, soluble protein, and soluble sugar) were obtained at the lowest irradiance (20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$). The rapid increase of algae polyphenols was observed at the highest irradiance (200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$). The finding has important implication for the extraction of natural polyphenols.

KEY WORDS *Sargassum muticum* Irradiances Growth Biochemical composition

海黍子 *Sargassum muticum* 是马尾藻属中藻体较大的一种, 为多年生的大型褐藻, 广泛分布于日本、越南、中国北方的黄海和渤海沿岸。海黍子幼苗可以食用, 成藻可作为海参饲料及褐藻胶的原料(曹淑青等 2008)。海黍子与海参鲍鱼养殖结合, 可形成优良的环境友好型立体生态养殖系统。海黍子藻体内含有的高相对分子质量的褐藻多酚具有较强抗氧化活性, 是一类潜在的海洋生物天然抗氧化剂(严小军 1996; 魏玉西等

国家海洋公益性行业科研专项课题(201305043; 201105008-2)、国家 863 计划(2012AA10A413)和海洋科技推进平台与运行项目共同资助

* 通讯作者。E-mail: li-meizhen@163.com, Tel: 13668895515

收稿日期: 2012-06-26; 接受日期: 2012-10-17

作者简介: 詹冬梅(1971-), 女, 副研究员, 主要从事海藻生物学研究。E-mail: zdm1011@126.com, Tel: 13589207037

2003)。国外已有一些关于海葵子入侵后的分布(Curiel *et al.*, 1988)、生长、繁殖季节及其他生态方面(Norton *et al.*, 1983; Critchley *et al.*, 1990; Gestosou *et al.*, 2011)的研究,以及关于海葵子在各季节营养成分上的差异(Gorham *et al.*, 1984)、抗氧化活性物质(Chew *et al.*, 2008)的研究,而有关光照对其生长率及生化指标影响的研究未见报道。

1 材料与方法

1.1 材料及预培养

海葵子于2011年12月采自山东荣成湾。选取健康藻体,用海水洗刷掉浮泥杂藻后,置于塑料水槽中预培养(培养条件为温度5℃、光照强度为25 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)7d后,筛选生长健壮的藻体尖端,剪成3~5 cm长的片段,置于3 000 ml(内含2 500 ml消毒海水培养液)三角烧瓶中充气培养。每个三角烧瓶加入的藻体质量为2.00±0.02 g,藻体称重前用滤纸吸干藻体表面水分。试验所用的海水培养液中都添加了 NH_4Cl 及 KH_2PO_4 ,使培养液中N、P的初始浓度分别为0.44 mg/L及0.044 mg/L。海水培养液的盐度为31,pH为8.0。试验在光照培养箱中进行,培养温度为10℃,光照周期L:D=12h:12h。

1.2 方法

1.2.1 光照对生长的影响实验

设5个光照梯度(20、40、80、120、200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$),每个处理4个平行。培养温度为10℃,光照周期L:D=12h:12h。试验持续21d,以鲜藻的特定生长率大小来比较海葵子的生长快慢。

1.2.2 特定生长率及含水量

试验期间每3d称重1次,特定生长率(R_{SG})用下式计算:

$$R_{SG} = [(W_t/W_0)^{1/t} - 1] \times 100$$

式中, R_{SG} 为特定生长率(SGR), W_t 为实验中期或结束时藻体鲜重, W_0 指实验开始时藻体鲜重, t 为培养时间。

含水量测定按照陈毓荃(2002)主编的《生物化学实验方法和技术》的测定方法测定。

1.2.3 生化组分的测定

在试验结束时测定各组鲜藻的叶绿素a、可溶性蛋白质和可溶性多糖含量。叶绿素a含量以占藻体湿质量的百分含量表示。褐藻多酚、可溶性糖和蛋白质的含量均以占藻体干质量的百分含量表示,但可溶性糖及可溶性蛋白含量测定是用海葵子鲜藻测定的,然后按1.2.2测出的含水量换算成干质量的百分含量,褐藻多酚是直接在海葵子干品测定的。

1.2.3.1 叶绿素a

叶绿素a测定采用丙酮萃取法。用80%丙酮研磨约0.1 g鲜重量的藻体,磨碎液在转速为4 000 r/min条件下离心,收集上清液,用80%丙酮定容到10 ml,分别于波长663 nm和645 nm处读吸光值。按Arnon(1949)的公式计算提取液的叶绿素浓度。 $C_a = 12.7 \text{ OD}_{663} - 2.69 \text{ OD}_{645}$,其中, C_a 代表叶绿素a的浓度(g/ml)(陈毓荃 2002)。

1.2.3.2 可溶性糖

称取样品0.2 g(湿质量),加蒸馏水磨浆后,于沸水中提取30 min,提取液过滤并定容到10 ml,硫酸蒽酮法测定(陈毓荃 2002)。

1.2.3.3 可溶性蛋白

可溶性蛋白质测定是以牛血清白蛋白作为标准做标准曲线。测定时取样品0.5 g(湿质量),加蒸馏水磨浆破碎后离心定容到10 ml,按考马斯亮蓝法测定(陈毓荃 2002)。

1.2.3.4 褐藻多酚

取海葵子0.1 g(干质量),以15%乙醇微波萃取后,在转速为4 000 r/min条件下离心,取上清液并定容,

按照福林酚比色法进行含量测定(Chew *et al.* 2008)。

1.3 数据处理与分析

实验数据用 SPSS 11.0 软件经单因素方差分析,结果差异显著后进行多重比较(Duncan)。以 $P < 0.05$ 作为显著标准。

2 结果

2.1 不同光照强度对海黍子特定生长率(R_{SG})的影响

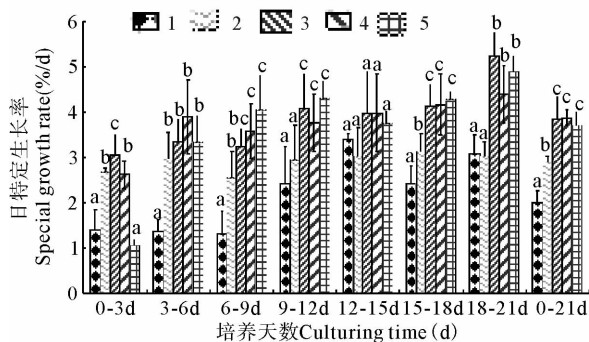
结果表明,在 $20 \sim 200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照范围内,海黍子达到最大生长率所需时间不同,即存在一个长短不一的滞缓期。 $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照条件下,海黍子在实验前 9 d 生长滞缓;在 $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照条件下,在前 3 d 生长滞缓,3 d 后生长逐渐加速;而在 $40 \sim 120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照下从实验开始时藻体生长速度就比较快,无明显的滞缓期。

从图 1 可以看出,在试验期间的各阶段,光照对海黍子生长率的影响结果比较一致。具体表现为光照在 $80 \sim 200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 范围内时,各处理组的海黍子特定生长率都比较高,且无显著差异。光照低于 $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, 特定生长率较低。

2.2 不同光照强度对海黍子生化组成的影响

不同光照强度对海黍子中叶绿素 a 含量的影响见图 2。

数据分析结果表明,光照强度对海黍子叶绿素 a (Chl-a) 含量有显著的影响($P < 0.05$)。光照 $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 时的叶绿素 a 含量显著高于其他光照条件。光照 $40 \sim 80 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 之间无显著差异,光照 $120 \sim 200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 之间无显著差异。但总的趋势是叶绿素 a 的含量都随着光照强度的增加而减小。光照对海黍子可溶性蛋白、可溶性糖、褐藻多酚含量的影响见图 3。数据分析结果表明,最低光照组($20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)的可溶性蛋白显著高于最高光照组($200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$),其余各组无显著性差异($P > 0.05$)。海黍子中可溶性糖在光照为 $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 下含量最高,其余各处理组之间无显著差异($P > 0.05$)。光照在 $20 \sim 80 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 时,褐藻多酚含量变化不显著,当光照增加到 $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 时,褐藻多酚含量降到最低,但若继续增加光照,使其达到 $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 时,褐藻多酚含量急剧增加。



1. 光照为 $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$; 2. 光照为 $40 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
3. 光照为 $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$; 4. 光照为 $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
5. 光照为 $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$

注: 同一培养天数组下标有不同字母(a, b, c)

表示经多重检验相互之间的差异显著, $P < 0.05$

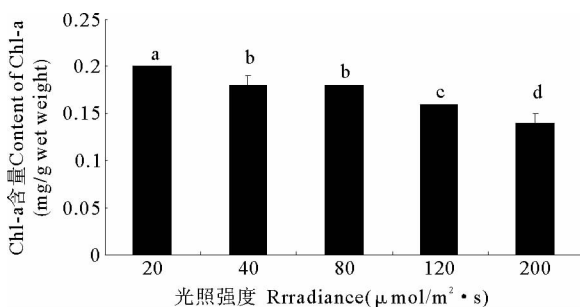
1. Irradiance of $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$; 2. Irradiance of $40 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
3. Irradiance of $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$; 4. Irradiance of $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
5. Irradiance of $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$

Different letters in each group represent significant

($P < 0.05$) difference by Duncan test among treatments

图 1 光照对海黍子特定生长率的影响($n=4$)

Fig. 1 Growth rate of *S. muticum* at different irradiance ($n=4$)



注: 柱形图上标有的不同字母(a, b, c, d)表示经多重检验相互之间的差异显著, $P < 0.05$

Different letters represent significant

($P < 0.05$) difference by Duncan test among treatments

图 2 光照对海黍子叶绿素 a 含量的影响($n=4$)

Fig. 2 Impact of different irradiance on the content of Chlorophyll-a ($n=4$)

3 讨论

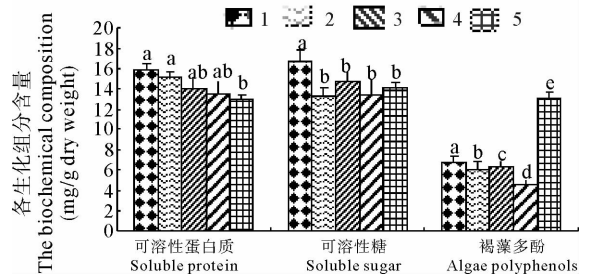
从 20 世纪 80 年代开始,海黍子从太平洋沿岸通过船只及贝壳入侵到欧洲与美洲,如爱尔兰(Kraan 2007)、荷兰、意大利(Curiel *et al.* 1988)、西班牙(Gestosou *et al.* 2011)、葡萄牙(Monteiro *et al.* 2009)、英国、美国、墨西哥等国家,并为很多海洋脊椎动物提供了一个很稳定的栖息地(Gestosou *et al.* 2011),在池塘里形成的海黍子天蓬可使水温降低 2.7 °C,并固定大量的碳(Critchley *et al.* 1990),成为马尾藻床重要的组成部分(Thomsen *et al.* 2006)。

本研究结果表明,海黍子在试验光照范围内(20~200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)均能显著健壮生长,其特定生长率在光照为 80~200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 范围内差异不显著,但显著高于 20~40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照下的特定生长率,显示海黍子不仅有较强的光照适应能力,而且在 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 以上的较高光照条件下生长比较快,是一种适宜在较高光照下生长的海藻。这与鼠尾藻在 180 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 光照条件下生长就受到抑制不同(姜宏波等 2009)。对鼠尾藻的研究表明,达到鼠尾藻最大生长速率所需要的光照强度随着温度升高而上升(姜宏波等 2009)。本研究设定的温度为 10 °C,但在自然环境中海黍子生长最快时的水温在 10~15 °C 之间。因此作者推测,在此温度范围内随着温度的升高,海黍子最大生长率所需的光照可能会大于 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

Lewey 等(1984)研究了各月份海黍子的色素组成及光合作用后发现,生长越快色素含量越低。他认为可能是色素的产生速度不及藻体生长速度导致被稀释而降低,第二个原因可能是夏天光线对色素有漂白作用而使其含量降低。本研究中海黍子叶绿素 a 随光照变化比较显著。随着光照强度的上升,海黍子叶绿素含量明显降低,特别是在低光照条件下(20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)叶绿素 a 的含量明显高于其他组。光照上升到 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$,海黍子中叶绿素 a 含量降到最低值,超过 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 时,其叶绿素 a 的含量仍稳定在最低值,不再继续降低。用“色素漂白使色素降低”的理论解释不了本研究结果。一般藻类在强光下,叶绿素 a 含量均呈下降趋势。如龙须菜 *Gracilaria lemaneiformis* (林贞贤等 2007)、麒麟菜 *Eucheuma isiforme* (Moon *et al.* 1976)、鼠尾藻(姜宏波等 2009)。在较低光照强度下藻体叶绿素的含量会增加,这种现象在其他海藻中也普遍存在,各位学者一般将叶绿素的增加归因于海藻对低光强的适应,即在较低光照强度下,海藻通过补偿性地增加光合色素来弥补光照不足而引起的光能利用率低和生长缓慢等问题(刘静雯等 2001)。这种理论与本研究的研究结果相一致。

植物体内可溶性蛋白质大多数是参与各种代谢的酶类,测其含量是了解植物体总代谢的一个重要指标。本研究发现海黍子可溶性蛋白随光照强度增加呈下降趋势。这与石莼(王巧晗等 2010)、鼠尾藻(姜宏波等 2009)、细基江蓠(刘静雯等 2001)一致。可能是因为低光照下藻类生长受到抑制,体内酶水平补偿性增加,从而提高了藻体对光能的有效利用率,这是对自然的一种积极生理适应,具有重要的生态学意义(姜宏波等 2009)。Gorham 等(1984)研究海黍子化学组成随季节变化情况时,也发现蛋白质含量在冬天及初春最高,可能也是由于低温导致体内酶水平补偿性增加所致。

海藻多酚是海藻体内合成的、用以抵御植食者的一大类化学防御物质,是植物体内最普遍存在的次生代谢物质和唯一的分子水平上的防御物质(杨会成等 2007)。Monteiro 等(2009)发现 13 种葡萄牙当地海藻与人



1. 光照为 20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
2. 光照为 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
3. 光照为 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
4. 光照为 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
5. 光照为 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

注: 同一簇图中标有不同字母(a、b、c、d)表示经多重检验相互之间的差异显著, $P < 0.05$

1. Irradiance of 20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
2. Irradiance of 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
3. Irradiance of 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
4. Irradiance of 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;
5. Irradiance of 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

Different letters in each group represent significant ($P < 0.05$) difference by Duncan test among treatments

图 3 光照对海黍子各生化指标含量的影响($n=4$)

Fig. 3 Impact of different irradiance on the contents of soluble protein, soluble sugar and algae polyphenols ($n=4$)

入侵物种海黍子相比,当地食草生物更愿意以当地海藻为食,使得葡萄牙海岸入侵物种海黍子的扩张颇具竞争优势。马尾藻海黍子中褐藻多酚含量高且抗氧化活性强,是一类潜在的海洋生物天然抗氧化剂(范晓等 1999;魏玉西等 2003)。本研究中海黍子在 $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 的高光照条件下,褐藻多酚含量急剧增加,可能因为过强的光照启动了海黍子的防御功能,是海黍子的一种应激反应。褐藻多酚具有抗氧化、抗菌抗病毒、抗肿瘤等多种生物活性,具有潜在的开发价值。海黍子褐藻多酚含量在强光照下急剧增加的特性对褐藻多酚的开发应用具有十分重要的意义。

总之,海黍子具有较强的适应高光照能力,除褐藻多酚外,其他各生化指标含量虽然有显著差异,但变化比较平稳,而褐藻多酚含量在最大光强下的急剧增加体现了海黍子的一种应激防御功能。

参 考 文 献

- 王巧晗,董双林,田相利,王芳,董云伟,张凯. 2010. 光照强度对孔石莼生长和藻体化学组成的影响. 海洋科学,34(8):76-80
- 刘静雯,董双林. 2001. 光照和温度对细基江蓠繁枝变型的生长及生化组成的影响. 青岛海洋大学学报,31(3):332-338
- 严小军. 1996. 中国常见褐藻的多酚含量测定. 海洋科学集刊, 37-61
- 杨会成,董士远,刘尊英,郭玉华,李瑞雪,曾名勇. 2007. 海藻中多酚类化学成分及其生物活性研究进展. 中国海洋药物,26(5):53-59
- 陈毓荃. 2002. 生物化学实验方法和技术. 北京:科学出版社,95-97
- 林贞贤,宫相忠,李大鹏. 2007. 光照和营养盐胁迫对龙须菜生长及生化组成的影响. 海洋科学, 31(11):22-26
- 范晓,严小军,房国明,陈予敏,娄清香. 1999. 高分子量褐藻多酚抗氧化性质研究. 水生生物学报,23(5):494-499
- 姜宏波,田相利,董双林,包杰. 2009. 温度和光照强度对鼠尾藻生长和生化组成的影响应用. 应用生态学报,20(1):185-189
- 曹淑青,张泽宇,王国书,由学策,刘宏宇. 2008. 海黍子室内人工育苗技术的研究. 大连水产学院学报,23(5):359-364
- 魏玉西,徐祖洪. 2003. 褐藻中高相对分子质量褐藻多酚的抗氧化活性研究. 中草药, 34(4):317-319
- Aguilar-Rosas R, Galindo AM. 1990. Ecological aspects of *Sargassum muticum* (Fucales, Phaeophyta) in Baja California, Mexico: reproductive phenology and epiphytes. *Hydrobiologia* 204/205: 185-190
- Arnon DI. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol* 24: 1-15
- Chew Y, Lim Y, Omar M, Khoo KS. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT*, 41: 1067-1072
- Critchley A, Visscher P, Nienhuis P. 1990. Canopy characteristics of the brown alga *Sargassum muticum* (Fucales, Phaeophyta) in Lake Grevelingen, southwest Netherlands. *Nienhuis Hydrobiologia* 204/205:211-217
- Curiel D, Bellemo G, Marzocchi M and 2 others. 1998. Distribution of introduced Japanese macroalgae *Undaria pinnatifida*, *Sargassum muticum* (Phaeophyta) and *Antithamnion Pectinatum* (Rhodophyta) in the Lagoon of Venice. *Hydrobiologia* 385: 17-22
- Gestoso I, Olabarria C, Troncoso J. 2011. Effects of macroalgal identity on epifaunal assemblages: native species versus the invasive species *Sargassum muticum*. *Helgol Mar Res*, Publish Online: 05 May
- Gorham J, Lewey S. 1984. Seasonal changes in the chemical composition of *Sargassum muticum*. *Marine Biology* 80: 103-107
- Kraan S. 2007. *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt in Ireland: an invasive species on the move. *Journal of Applied Phycology* 20(5): 375-382
- Lewey S, Gorham J. 1984. Pigment composition and photosynthesis in *Sargassum muticum*. *Marine Biology* 80: 109-115
- Monteiro C, Engelen A, Santos R. 2009. Macro- and mesoherbivores prefer native seaweeds over the invasive brown seaweed *Sargassum muticum*: a potential regulating role on invasions. *Mar Biol* 156:2505-2515
- Norton T, Benson M. 1983. Ecological interactions between the brown seaweed *Sargassum muticum* and its associated fauna. *Marine Biology* 75: 169-177
- Thomsen MS, Wernberg T, Stahr PA, Pedersen MF. 2006. Spatio-temporal distribution patterns of the invasive macroalga *Sargassum muticum* within a Danish *Sargassum*-bed. *Helgol Mar Res* 60: 50-58