



## 条斑紫菜精子囊细胞色素含量及光合活性的研究

潘光华<sup>1</sup>, 杨睿灵<sup>2</sup>, 王广策<sup>1</sup>

(1. 天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457;  
2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

**摘要:** 以条斑紫菜叶状体为材料, 对精子囊细胞分化过程中光合活性、色素含量的变化进行研究并与营养细胞进行比较分析. 结果表明: 营养细胞在色素含量以及光合活性方面均明显高于精子囊细胞, 二者表现出明显的生理生化差异. 在脱水及复水过程中, 营养细胞和精子囊细胞表现出相似的光响应特征. 两种组织在生理生化特征上的差异和相似点表明紫菜精子囊细胞在形成过程中始终保留部分营养细胞的功能, 反映了紫菜精子囊细胞形成过程中细胞功能分化的原始性.

**关键词:** 条斑紫菜; 光合色素; 光合活性

**中图分类号:** P735      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1672-6510(2012)02-0005-04

### Study of Photosynthetic Pigment Contents and Photosynthesis of Spermangium and Vegetative Cells in *Porphyra yezoensis*

PAN Guanghua<sup>1</sup>, YANG Ruiling<sup>2</sup>, WANG Guangce<sup>1</sup>

(1. Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;  
2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

**Abstract:** The content of photosynthetic pigments and the photosynthetic activity were investigated in the formation process of spermangium of *Porphyra yezoensis*, and the physiological and biochemical characters were compared between spermangium and vegetative cells. The results showed that the pigment contents and photosynthetic activities in vegetative cells were significantly higher than those in spermangium, and there were significant differences in physiology and biochemistry between spermangium and vegetative cells. However, the light responses of both cells in photosynthesis were similar during the process of desiccation and rehydration. Indicated that the germ cells partly remained the functions of vegetative cells, and also implied that the primary cell differentiation was still in function during the formation of *porphyra* spermangium.

**Key words:** *Porphyra yezoensis*; photosynthetic pigments; photosynthetic activity

紫菜是一种进化地位较为原始、结构简单的大型红藻, 许多种类的叶状体仅由单层细胞构成, 且成熟个体的生殖组织分布明显, 与生殖器官高度分化、结构复杂的高等植物相比, 紫菜是进行生殖细胞分化研究的理想材料. 尽管如此, 目前关于紫菜的生殖细胞分化研究还十分有限, 大多数研究仅限于形态学观察和描述, 而对细胞内化学及生理活性的变化缺少必要的研究. 对此, 本文以条斑紫菜叶状体为研究材料,

对其雄性精子囊细胞形成过程中光合活性、色素含量特征的变化及其与营养细胞间的差异进行比较分析, 该生理生化分析结果为进一步深入认识紫菜生殖细胞分化机制奠定研究基础, 同时为高等植物生殖器官的细胞分化研究提供必要借鉴. 考虑到生长于潮间带水域的野生条斑紫菜通常会因潮汐而周期性地经历干露和复水的状态, 为使研究结果更准确地反映自然状态下个体细胞的分化差异, 本实验对营养细胞及

收稿日期: 2011-11-16; 修回日期: 2012-01-03

基金项目: 天津科技大学科学研究基金资助项目(20100219)

作者简介: 潘光华(1981—), 男, 内蒙古人, 助理实验师; 通信作者: 王广策, 教授, gchwang@qdio.ac.cn.

精子囊细胞生理生化指标的测定比较也是在脱水和复水的过程中进行。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料来源及预处理

条斑紫菜叶状体采自青岛太平角海区,挑选成熟、健康的个体,用消毒海水反复冲洗后分别切取、收集未分化的营养细胞组织和已分化的精子囊细胞组织。

#### 1.2 光合色素含量的测定

组织样品在 10 °C 下阴干至表面无水分残留的状态后置于 -20 °C 冰箱中冷冻过夜。精确称取 0.5 g 样品放入研钵中,加入液氮后充分研磨至样品呈粉状,将粉末转移至离心管中并加入约 20 mL 蒸馏水,4 °C 避光静置 30 min。4 °C、8 000 r/min 离心 10 min,取上清液,加入蒸馏水定容至 25 mL,之后分别在 651、614 和 498 nm 波长下测定吸光度,根据 Kursar 等<sup>[1]</sup>的公式计算藻红蛋白、藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白的含量。另取 0.5 g 样品以 90%的丙酮作为提取液避光研磨提取叶绿素 a,将多次研磨后得到的提取液进行离心,离心条件为 4 °C、8 000 r/min 离心 10 min,取上清液并定容至 50 mL。吸光度的测定和叶绿素 a 含量的计算参照 Jeffrey 等<sup>[2]</sup>的方法进行。以上两种细胞组织光合色素的测定重复至少 3 次。

#### 1.3 脱水及复水过程中光合活性的测定

参照 Lin 等<sup>[3]</sup>的方法,采用 Dual-PAM-100 型调制叶绿素荧光仪(德国 WALZ 公司)对细胞和组织在脱水和复水过程中的光合活性进行测定,测定参数包括:光系统 I (PS I) 反应中心的光化学量子产量  $Y(I)$ 、光系统 II (PS II) 反应中心的最大光合量子产量 ( $F_v/F_m$ )、实际量子产量  $Y(II)$  以及调节性能量耗散  $Y(NPQ)$ 。其中  $Y(I)$  和  $Y(II)$  分别反映两个光系统的实际光合作用能力,反映 PS II 的潜在光合能力,  $Y(NPQ)$  反映光保护能力<sup>[4]</sup>。每次样品测量前先经过 15 min 暗处理。样品的自然脱水在避光的培养皿中进行,其相对含水量的确定参照 Burritt 等<sup>[5]</sup>的方法进行测定和计算。当组织样品脱水至 PS II 的实际量子产量  $Y(II)$  为 0 时,再将样品放入盛有海水的培养皿中复水。每种组织样品选取 6 次进行重复实验。

#### 1.4 精子囊细胞形成过程中的光合活性测定

采用尼康 E100 型显微镜跟踪观察叶状体端部营养细胞向雄性精子囊细胞分化过程中的细胞形态变

化,根据生殖细胞形成过程中的表面细胞分裂特点将分化过程分为:初始期、2 细胞时期、4 细胞时期、8 细胞时期以及精子释放前期。各细胞时期光合活性的测定方法同上,测定参数包括最大光合量子产量  $F_v/F_m$ 、实际量子产量  $Y(II)$  以及本底荧光  $F_0$ 。每个细胞时期的光合参数测定至少重复 3 次。

### 2 实验结果

#### 2.1 光合色素含量的比较分析

营养细胞中 4 种光合色素的含量(以干质量计)均明显高于精子囊细胞,并且两种细胞中的色素构成比例也存在较为明显的差异,营养细胞中藻红蛋白和藻蓝蛋白的含量明显高于另外两种色素,其中又以藻蓝蛋白的含量为最高,而在精子囊细胞中,藻红蛋白的含量明显高于其余 3 种色素(表 1)。

表 1 营养细胞与精子囊细胞色素含量比较  
Tab.1 The pigments contents of the vegetative cells and spermatangium mg/g

色素	营养细胞	精子囊细胞
叶绿素 a	3.55 ± 0.25	0.85 ± 0.05
藻红蛋白	8.21 ± 0.21	2.05 ± 0.05
藻蓝蛋白	9.37 ± 0.71	1.15 ± 0.09
别藻蓝蛋白	4.41 ± 0.45	0.85 ± 0.05

#### 2.2 脱水及复水过程中光合活性的比较

在脱水及复水过程中,两种细胞的光合活性变化体现出大致相同的变化趋势,表现在两种细胞 PS II 反应中心的最大光合量子产量 ( $F_v/F_m$ )、实际量子产量  $Y(II)$  以及调节性能量耗散  $Y(NPQ)$  随着相对含水量的下降而不断降低,在复水 15 min 后又能够迅速回升,使光合活性达到接近脱水前的初始状态(图 1—图 3)。

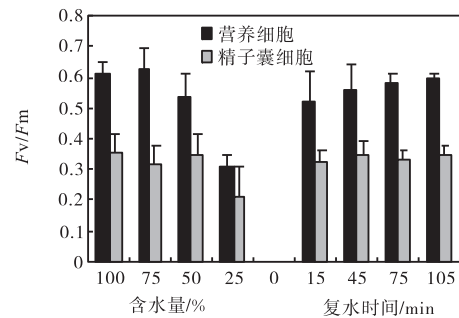


图 1 两种细胞脱水及复水过程中  $F_v/F_m$  的比较  
Fig.1 Comparison of  $F_v/F_m$  between both tissues in the process of desiccation and rehydration

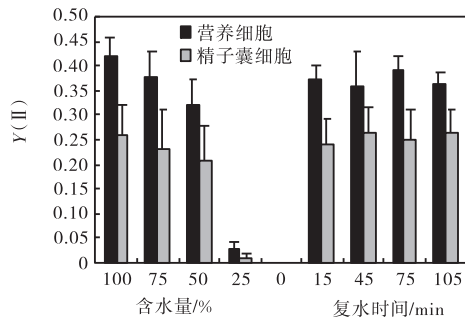


图 2 两种细胞脱水及复水过程中 Y(II) 的比较

Fig.2 Comparison of Y(II) between both tissues in the process of desiccation and rehydration

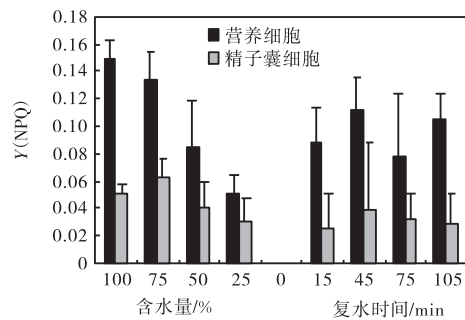


图 3 两种细胞脱水及复水过程中 Y(NPQ) 的比较

Fig.3 Comparison of Y(NPQ) between both tissues in the process of desiccation and rehydration

两种细胞 PS I 反应中心的光化学量子产量 Y(I) 的变化趋势略有不同, 仅在含水量为 25% 时明显下降, 而在其他含水量及复水时间区段内变化相对不明显(图 4). 在失水及复水过程中精子囊细胞两个光系统反应中心的各项光合参数都低于营养细胞.

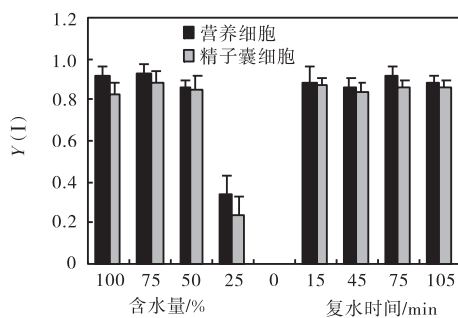


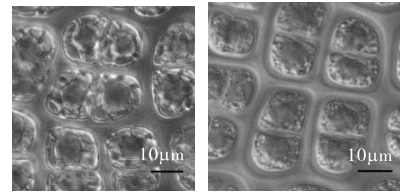
图 4 两种细胞脱水及复水过程中 Y(I) 的比较

Fig.4 Comparison of Y(I) between both tissues in the process of desiccation and rehydration

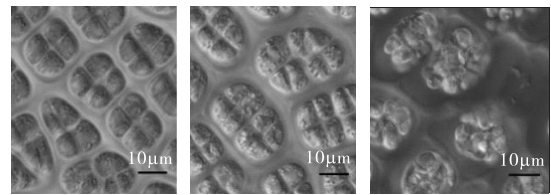
2.3 精子囊细胞形成过程中光活性的变化

精子囊细胞从初始期至精子释放前期的分化过程显微照片见图 5. 该分化过程(表 2)中最大光合量子产量 (Fv/Fm) 和实际量子产量 Y(II) 的变化趋势几乎相同, 在 4 细胞时期前都表现出先下降后升高的趋

势, 在 8 细胞及精子释放前期均降为零. 反映色素含量的本底荧光 F<sub>0</sub> 在整个分化过程中呈持续下降趋势, 尤其是在 8 细胞时期和释放前期下降明显.



(a) 1 细胞时期 (b) 2 细胞时期



(c) 4 细胞时期 (d) 8 细胞时期 (e) 精子释放前期

图 5 精子囊细胞的形成过程

Fig.5 Formation process of spermatangium cells

表 2 精子囊细胞形成过程中 Y(II)、Fv/Fm 以及 F<sub>0</sub> 的变化  
Tab.2 Variation of Y(II), Fv/Fm and F<sub>0</sub> in the formation process of spermatangium cells

分化期	Y(II)	Fv/Fm	F <sub>0</sub>
1 细胞时期	0.37 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.057 ± 0.008
2 细胞时期	0.32 ± 0.05	0.38 ± 0.03	0.054 ± 0.006
4 细胞时期	0.49 ± 0.05	0.53 ± 0.04	0.052 ± 0.006
8 细胞时期	0	0	0.030 ± 0.004
释放前期	0	0	0.012 ± 0.002

3 讨论

以往关于紫菜生殖细胞分化的研究大多为发育角度的形态学观察, 本研究则从生理生化角度出发, 揭示了精子囊细胞分化过程中光活性和色素含量的变化及其与营养细胞间相应特征的差异.

在营养细胞向精子囊细胞分化的过程中, 细胞本底荧光 F<sub>0</sub> 的持续下降表明细胞色素含量的逐渐降低, 该变化与观察结果相对应: 随着精子囊细胞的发育成熟, 细胞逐渐由褐色变为浅黄绿或灰白色. 藻类细胞内色素的种类、含量和比例决定藻体的外部颜色, 紫菜营养细胞内较高含量的叶绿素 a、藻红蛋白以及藻蓝蛋白是其呈现褐色或紫红色的主要因素<sup>[6]</sup>. 从本实验中与营养细胞的对比结果分析, 精子囊细胞内较低的色素含量应是造成其颜色相对较浅的主要原因.

在光合活性方面, 在精子囊细胞分化过程中最

大光合量子产量 ( $F_v/F_m$ ) 和实际量子产量  $Y(II)$  并非随着细胞的逐渐特化而持续下降, 而是在 4 细胞时期出现了明显的上升, 推测此时光合作用能力的提高可能是借此储备能量以利于细胞的继续发育和精子的释放, 这一点类似于高等植物花粉发育过程中能量的分配<sup>[7]</sup>.

两种细胞相比较, 营养细胞的潜在最大光合量子产量、两个光系统的实际量子产量以及调节性能量耗散均高于精子囊细胞, 这一结果与二者色素含量的高低相吻合. 因为在紫菜色素蛋白中, 藻红、藻蓝以及别藻蓝蛋白作为捕获光能的天线色素和光反应中心的叶绿素 a 对光合作用均起到至关重要的作用<sup>[8]</sup>, 光合色素含量的高低可能直接导致光合活性的强弱.

尽管两者在光合活性方面表现出明显的强弱差异, 但在脱水及复水过程中却体现出大致相同的光响应特征, 即两者的光合活性都随着组织含水量的减少而下降, 都能够在含水量极低 (仅为 25%) 的情况下仍然维持一定的光合活性, 并且在短暂的复水后迅速恢复正常的光合作用, 推测其原因可能是由于自然环境下同一藻体的两种细胞组织共同经历周期性的干露和复水过程, 相同的生存环境导致二者产生相似的适应性特征. 另外一个可能的原因是, 紫菜作为一种较为原始藻类植物, 其生殖器官的特化程度较低, 成熟的生殖细胞仍具有与营养细胞相近的光合生理特征.

#### 4 结 语

紫菜是一种开展植物生殖细胞分化研究的理想材料. 本文对条斑紫菜营养细胞和精子囊细胞的生理生化特征比较结果表明, 二者在光合色素组成含量以及光合活性上表现出明显差异的同时又表现出对环境变化的相似光响应特征. 这些生理生化特征上的差

异点和相似点体现了藻类植物进化过程中生化特征和生理功能分化的原始性, 对于高等植物生殖生物学的相关研究具有一定的启示和借鉴意义.

#### 参考文献:

- [1] Kursar T A, Van Der Meer J, Alberte R S. Light-harvesting system of the red alga *Gracilaria tikvahiae*: I. Biochemical analysis of pigment mutations[J]. Plant Physiology, 1983, 73 (2) : 353-360.
- [2] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton[J]. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1975, 167: 191-194.
- [3] Lin Apeng, Wang Guangce, Yang Fang, 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.
- [4] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51 (345) : 659-668.
- [5] Burritt D J, Larkindale J, Hurd C L. Antioxidant metabolism in the intertidal red seaweed *Stictosiphonia arbuscula* following desiccation[J]. Planta, 2002, 215 (5) : 829-838.
- [6] 有贺祐胜. 条斑紫菜的颜色和色素[J]. 水产技术与经营, 1981 (1) : 63-71.
- [7] Southworth D, Dickinson D B. Ultrastructural changes in germinating lily Pollen[J]. Grana, 1981, 20 (1) : 29-36.
- [8] 作小南, 傅元蕴, 张学成. 几种红藻和蓝藻藻胆体的分离和光谱特性[J]. 海洋湖沼通报, 1993 (3) : 88-93.

责任编辑: 郎婧