

裙带菜雄配子体营养生长过程中的 营养吸收*

逢少军 肖天

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 于1997年在香港科技大学,采用LACHAT自动离子分析仪对裙带菜雄配子体(1992年6月自青岛分离的野生品系)进行营养分析。结果表明,在恢复营养供给后的1h内,雄配子体对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 三种营养盐的吸收速度依次为 $22.71\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 、 $14.86\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 和 $8.08\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,吸收速度的排列顺序不随培养时间的延长而变化;雄配子体对氨氮的吸收速度远高于对硝酸氮的吸收速度,饥饿的雄配子体细胞对三种营养盐的吸收均表现出短时、快速的特点。本文还依据在丰富培养过程中利用AODC计数的总异养菌数的变化特点,对可能造成的影响进行了初步的讨论。

关键词 裙带菜 雄配子体 营养吸收

学科分类号 Q945.1

裙带菜单倍体育苗技术是近年发展起来的种苗生产新技术,由于其潜在的市场应用前景和技术上的优势,已逐渐引起人们重视(Kass *et al.*, 1989; Pang *et al.*, 1997)。单倍体的丰富培养是这项技术得以实施的前提。根据以前的研究结果,在适宜的培养条件下,单倍体平均相对生长速度可达20%以上(Pang *et al.*, 1996)。目前尚无有关单倍体营养吸收的研究报道。本文报道作者1997年在香港科技大学完成的营养吸收实验结果,以期更加详细地了解这一过程的规律,进一步完善现有的培养技术。

1 材料和方法

1.1 雄配子体

1992年6月自青岛栈桥湾采集的裙带菜(*Undaria pinnatifida*)野生品系分离的雄配子体,长期培养在低温、低光的条件下,具体的分离及后期的丰富培养方法见Pang等(1996)。为了减少温度过高时细菌快速增殖所可能造成的对营养吸收的不良影响,将培养条件调整为:温度 20°C ,光照强度 $80\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光周期12h/12h,培养液为加富的消毒海水(Provasoli, 1968)。

1.2 水样的采集和营养分析方法

实验前将雄配子体在消毒海水中培养2d,以得到饥饿的材料,再添加3种营养盐以达到实验要求的水平。称取雄配子体材料的鲜重之后,培养雄配子体材料在以上环境条件

* 国家“863”计划资助项目, 863-819-03-01号。逢少军, 男, 出生于1965年4月, 博士, 副研究员, E-mail: sjpang@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 1998-03-26, 收修改稿日期: 1999-04-19

下,并在培养后 1h、6h、12h、1d、2d、3d 和 4d 时分别取样,水样保存在 -80°C ,统一用 LCHAT 自动离子分析仪分析其中三种营养盐的水平。每一个水样分析三次,取平均值 1 代表其浓度。

1.3 水样中总异养菌计数方法

采用 AODC(荧光染色直接计数)方法,在取营养分析水样的同时,采取 2ml 水样,用 2% 福尔马林固定,于 -20°C 保存。计数时,经丫叮橙染色液染色后,在荧光显微镜下直接计数。

2 结果

2.1 雄配子体对 N 盐的吸收规律

从检测的实验结果看,裙带菜雄配子体在营养生长过程中对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的吸收速度始终高于对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的吸收速度(图 1)。在恢复营养供给后的 1h 内,雄配子体对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的吸收速度高达 $22.71\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,而对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的吸收速度却只有 $8.08\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。尽管随着恢复营养供给时间的延长,对两种 N 盐的吸收速度均大幅度下降,但对氨氮的吸收速度始终高于对硝酸氮的吸收速度。裙带菜雄配子体对 N 营养盐的吸收表现出短时、高速的特点,前 1 个小时的吸收量接近或者超过以后 5 个小时的总吸收量(表 1)。

表1 雄配子体对N和P盐吸收的比较(μg)

Tab.1 Comparison of the uptaking amount (μg) of N and P by male gametophyte

时间范围(h)	$\text{NH}_4\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	$\text{PO}_4\text{-P}$
0—1	252.28	89.80	165.14
2—6	337.16	55.84	163.49

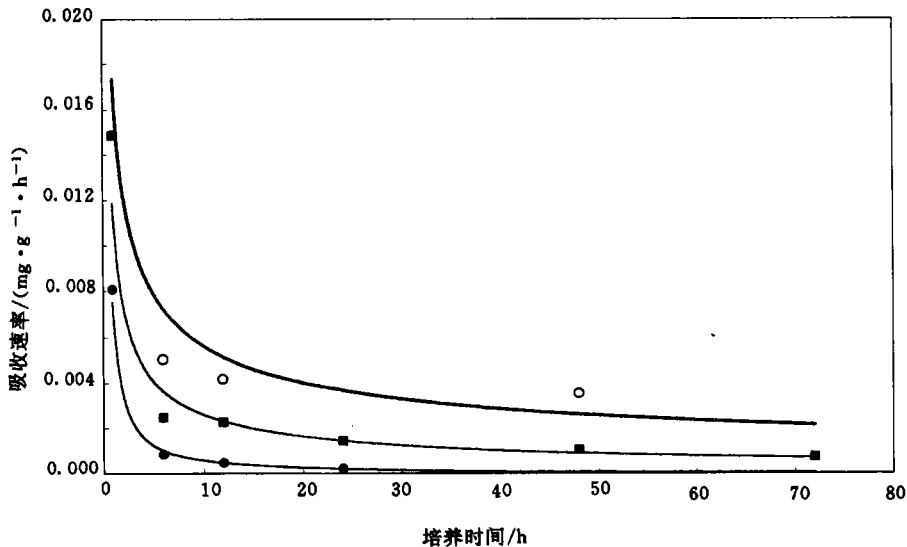


图1 裙带菜雄配子体对营养盐吸收的动力学规律

Fig.1 Dynamic of nutrient uptake by male gametophyte of *U. pinnatifida*

■ $\text{PO}_4\text{-P}$, $y = 0.0119x^{-0.6608}$; ● $\text{NO}_3\text{-N}$, $y = 0.0075x^{-1.1284}$; ○ $\text{NH}_4\text{-N}$, $y = 0.0173x^{-0.4868}$

2.2 雄配子体对 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的吸收特点

雄配子体材料在恢复原营养供给的时间内对 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的吸收速度变化见图 1。由图 1 可以看出,雄配子体对 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的吸收表现出与两种 N 盐相同的规律,即具有短时、高速的特点。从绝对吸收量看,每 g 雄配子体对 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的吸收位于 $\text{NH}_4\text{-N}$ 之后,在前一个小时内达 $14.86\mu\text{g}$ 。而随着时间的延长,吸收速度始终低于 $\text{NH}_4\text{-N}$ 而高于 $\text{NO}_3\text{-N}$ 。

2.3 培养液中总异养细菌的数量变化规律

尽管培养雄配子体采用的是消毒培养基 (121°C , 1h),但由于雄配子体材料为带菌培养 (Pang *et al.*, 1996),将其接种到新培养基之后,总菌数随培养时间而迅速上升,见图 2。到培养的第 2 天总菌数稳定在 $4 \times 10^6/\text{ml}$ 左右,之后虽稍有下降却基本稳定在这一水平。这一结果和以前的研究结果相一致。

3 讨论

揭示裙带菜雄配子体材料在丰富培养过程中对主要营养盐的吸收规律,可以最大程度地调整丰富培养的技术方法,使得营养盐的供给能适时地满足雄配子体生长的需要。根据以前研究的结果,单倍体在适宜培养条件下,日平均相对生长速度可达 20%—30%,这样高的生长速度需要及时的供给营养盐作为基础 (Pang *et al.*, 1996)。根据本文的研究结果,结合雄配子体所表现出的短时、高速的特点,在半连续培养雄配子体时,可结合这一特点制定具体的培养方法。雄配子体营养吸收规律和培养液中细菌数量变化有无一定的联系,目前尚不能定论。可以肯定的一点是,培养液中增殖的细菌来自带菌培养的雄配子体材料,这一点也可以同归在 AODC 直接技术和以前用 DAPI 方法染色过程中发现的丝状体表面大量附生细菌得到证实。维持 $10^6\text{—}10^7/\text{ml}$ 的细菌水平看来对雄配子体的正常生长并无不利影响。而且考虑到这些附生的细菌可能在短丝状体附着过程中,以及提供其它微量营养物质上有积极影响,所以除菌培养并无必要。另外,细菌的代谢毫无疑问在一定程度上影响着培养液中营养盐的水平,但经分析认为其影响程度不会太大,进一步的研究需要采用不带菌的雄配子体材料。

致谢 承蒙香港科技大学生物系钱培元教授的邀请,得以完成此项研究,谨致谢忱。

参 考 文 献

- Kass R, Perez R, 1989. Study of the Intensive Culture of *Undaria* on the Coast of Brittany. Outdoor Seaweed Cultivation. In: The Proceedings of the Second Workshop of COST 48 Subgroup 1, 31—33
- Pang Shaojun, Wu C Y, 1996. Study on gametophyte vegetative growth of *Undaria pinnatifida* and its applications. *Chin J Oceanol Limnol*, 14(3):205—210
- Pang Shaojun, Hu Xiaoyan, Wu Chaoyuan *et al.*, 1997. Intraspecific crossings on *Undaria pinnatifida* (Har.) Sur.: a possible time-saving way of strain selection. *Chin J Oceanol Limnol*, 15(3):227—235
- Provasoli L, 1968. Media and Prospects for the Cultivation of Marine Algae. In: Watanabe A, Hattori A ed.

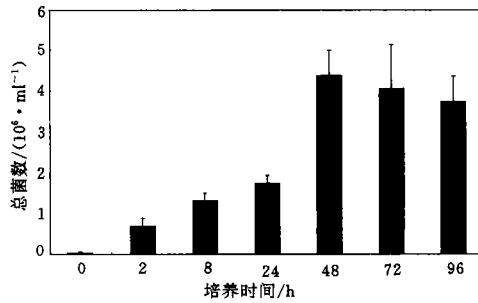


图 2 雄配子体营养生长过程中总菌数的变化

Fig.2 Total bacteria counts in the medium of vegetative male gametophyte culture

NUTRIENT UPTAKE IN SUSPENSION CULTURE OF VEGETATIVE MALE GAMETOPHYTE OF *UNDARIA PINNATIFIDA*

PANG Shao-jun, XIAO Tian

(Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Multiplication of vegetative gametophytes of *Undaria pinnatifida* is one of the important procedures in the recently established clone techniques to produce juvenile sporelings. Kinetics of nutrient uptake is a decisive factor to determine how often the medium should be changed. Under favorable culture conditions, the relative growth rate of vegetative growth rate is around 20%, therefore it is necessary to understand the related process. Results of dynamics of nutrient uptake ($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, and $\text{PO}_4\text{-P}$) by vegetative gametophytes of *Undaria pinnatifida* are reported in this paper. The male gametophyte was isolated in 1992 in Qingdao, China, and maintained under dim light to keep its vegetative state. For nutrient uptake analyses, the filamentous gametophyte were transferred to high irradiance and temperature in pure sterilized seawater for three days. Nutrient analyses were completed by automatic ion analyzer (LACHAT) by analyzing the water samples taken at certain time interval and stored at minus 80 degree centigrade. The uptaking rates of $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$, and $\text{NO}_3\text{-N}$ within the first hour were 22.71, 14.86 and $8.08\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, respectively. The order of uptaking rates afterwards among three nutrients did not change. The uptaking rates of $\text{NH}_4\text{-N}$ was all the time much higher than that of $\text{NO}_3\text{-N}$. The uptaking rate of $\text{PO}_4\text{-P}$ was also much higher than expected. The amount that the vegetative gametophyte uptook within the first hour was roughly equal to the total amount for the rest five hours thereafter. The results will help to modify the present multiplication procedures. Total bacteria counts in the gametophyte culture medium by use of AODC method was attempted and related results were discussed.

Key words *Undaria pinnatifida* Male gametophyte Nutrient uptake

Subject classification number Q945.1