

doi:10.11937/bfyy.20171398

不同光周期对浮萍生长及淀粉积累的影响

陈晓仪, 杨千叶, 赵琦

(成都大学 药学与生物工程学院, 四川 成都 610106)

摘要:以新型能源植物浮萍为试材,采用4种不同光周期处理:12 h 光期+12 h 暗期(L12/D12);16 h 光期+8 h 暗期(L16/D8);20 h 光期+4 h 暗期(L20/D4);24 h 光期+0 h 暗期(L24/D0),研究了不同光周期对浮萍生长及淀粉积累的影响。结果表明:延长光照时间可以加快浮萍干物质的积累,以上4个处理其生物量分别为2.93、3.32、3.70、4.39 g;也可促进浮萍淀粉的积累,淀粉含量分别为7.00%、8.64%、14.25%和19.75%。此外,不同光周期会影响叶绿素含量及净光合速率;淀粉代谢关键酶ADPG 焦磷酸化酶(AGPase)、可溶性淀粉合成酶(SSS)、 α 和 β 淀粉酶(α , β -amylase)的活性均发生变化。综合以上结果得出,在全光照(L24/D0)条件下浮萍干物质和淀粉积累效果最佳。

关键词:浮萍;淀粉;生物量;光周期

中图分类号:S 555⁺.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)22-0050-05

随着人们对能源需求的不断增长,导致化石能源日趋匮乏,生态环境问题日益增多。在这样的情况下,研究者越来越关注可再生或可持续性的清洁能源的开发与利用^[1]。浮萍科(Lemnaceae)

植物,通常简称浮萍,共有5个属约40个种,在世界各地均有分布^[2]。其具有环境适应性强、生长速度快、干物质积累量大等特点^[3]。据估算,每年1 hm²浮萍大约积累淀粉28 t^[4]。近年来,浮萍已被成功地转化为生物乙醇,转化效率达到25.8%,其乙醇浓度达到30.8 g·L⁻¹^[5],而且浮萍乙醇理论产量约为玉米的8倍^[6-7]。因此,浮萍被认为是最具有发展潜力的战略性新型非粮生物原料之一,有望解决部分燃料乙醇产业化发展所面临的淀粉原料瓶颈问题。植物的生长发育受外界环境(如光、温度、重力、水分和矿物质等)的影响,并以光的影响最大,其中光周期对植物的生长发育产生着重要的影响。该试验以经过人工筛选具有积累高淀粉能力的浮萍为试材,研究不同光

第一作者简介:陈晓仪(1990-),女,四川眉山人,硕士研究生,研究方向为药用植物天然产物及食品加工与安全。
E-mail: xiaoyichen_cdu@foxmail.com.

责任作者:赵琦(1981-),男,四川成都人,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事药用植物天然产物等研究工作。
E-mail: zhaoqi@cdu.edu.cn.

基金项目:成都大学人才引进计划资助项目(2081915053)。

收稿日期:2017-07-10

superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD), malondialdehyde (MDA) comprehensive evaluation. According to the comprehensive evaluation value (D value) of salt tolerance in order to laid the foundation for the construction of the genetic groups and the related genes of salt tolerance. The results showed that in 150 mmol·L⁻¹ under the stress of NaCl, 'Asi'>'Xingping'>'Peru'>'Caoyuan No. 3'> domestic alfalfa; in 300 mmol·L⁻¹ under NaCl stress, 'Adina'>'Juneng'>'Juneng No. 7'>'Kanghan 15'>'Qishi T'. The germplasm resources of salt tolerance and salt tolerance were screened.

Keywords: alfalfa; hydroponics; seedling stage; salt tolerance

周期下浮萍生长和淀粉含量的积累情况,以期为浮萍的能源生产提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料少根紫萍(*Landoltia punctata*)采自四川成都市金牛区污水处理场出水口附近,水质达到国家排放标准。

供试仪器:752 分光光度计(上海奥普勒仪器有限公司);智能人工气候箱 PRX-250A(上海皓庄仪器有限公司);高效液相仪(美国热电公司);蒸发光检测器(美国奥泰万谱公司);PhotoLab 6100 分光光度计(德国 WTW 公司);Varioskan Flash 自动分光光度计(美国热电公司);LI-6400xt(美国 LI-COR 公司)。

1.2 试验方法

将试材经 10%次氯酸钠消毒 3 min,在人工气候箱内以 Hoagland 营养液扩大培养。培养条件为白天 25 ℃,16 h 光照,光照强度 $130 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;夜间 15 ℃,8 h 黑暗周期。培养 5~7 d 后取出,浮萍称取 9 g 转入 1 000 mL 的塑料培养皿中,培养液为 Hoagland 培养液,培养周期为 7 d。光照处理条件:12 h 光期+12 h 暗期(L12/D12);16 h 光期+8 h 暗期(L16/D8);20 h 光期+4 h 暗期(L20/D4);24 h 光期+0 h 暗期(L24/D0),光照强度 $130 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.3 项目测定

1.3.1 浮萍鲜干质量的测定

浮萍的鲜质量参照 BERGMANN 等^[3]的方法测定。定量称取 3 g 浮萍鲜样在 60 ℃的干燥箱中烘干 2 d,称量得到浮萍干质量。然后将浮萍磨粉,贮存于干燥器中,备用。

1.3.2 淀粉含量的测定

浮萍中的淀粉含量参照 ZHANG 等^[8]的方法水解后,通过 HPLC 测定总葡萄糖含量,淀粉含量=葡萄糖含量/1.1,淀粉总量=淀粉含量×生物量。

1.3.3 叶绿素含量及光合作用的测定

叶绿素含量采用 80%丙酮萃取 72 h 后参照 ARNON^[9]的方法测定,净光合速率采用

LI-6400xt 进行整株测量^[10]。

1.3.4 酶活性的测定

ADPG 焦磷酸化酶(AGP, EC 2.7.7.27)、可溶性淀粉合成酶(SSS, EC 2.4.1.21)、 α 和 β 淀粉酶(α -amylase, EC 3.2.1.1; β -amylase, EC 3.2.1.2)活性采用分光光度计法测定^[11]。

1.4 数据分析

采用 Origin 软件作图,利用 SPSS 15.0 软件对试验数据进行分析,以 95%为置信度水平。

2 结果与分析

2.1 不同光周期对浮萍生长状况的影响

由图 1 可以看出,浮萍生物量的积累随着光照时间的延长而增加。浮萍初始生物量为 0.92 g,7 d 后各处理分别增加到 2.93、3.32、3.70、4.39 g。不同光周期条件下浮萍生物量积累呈显著性差异,其中 L24/D0 条件下积累的生物量最多,是 L12/D12 条件下的 1.5 倍。说明长光照可以促进浮萍干物质的积累。

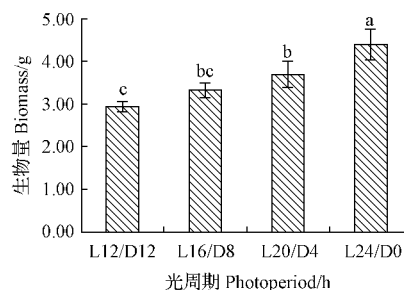


图 1 在不同光周期下浮萍生物量的积累

Fig. 1 Biomass accumulation of duckweed under different photoperiod

2.2 不同光周期对浮萍淀粉积累量的影响

由图 2 可以看出,浮萍淀粉含量随着光照时间的增长而逐渐升高,淀粉含量与光照时间呈正相关。浮萍淀粉初始含量为 3.74%,7 d 后各处理淀粉含量分别为 7.00%、8.64%、14.25% 和 19.75%。其中,L24/D0 条件下淀粉含量是 L12/D12 条件下的 2.82 倍。不同光周期条件下,浮萍积累的淀粉总量也随着光照时间的延长而增加。7 d 后,各处理浮萍淀粉总量分别为 0.21、0.29、0.53、0.87 g,全光照条件下浮萍积累的淀粉总量

最高,是 L12/D12 条件下的 4.2 倍。

2.3 不同光周期对浮萍叶绿素含量的影响

由图 3 可以看出,随着光周期的延长,叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素(a+b)含量均呈先增大后减小的趋势,在 L16/D8 时叶绿素含量最高,叶绿素

a、b 含量分别为 1.32 、 $0.45 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$; L24/D0 处理下叶绿素含量最少,叶绿素 a、b 含量分别为 0.95 、 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。可见,光周期设置在 L16/D8 时对浮萍光合色素合成的促进作用最显著,光周期过长反而不利于光合色素的合成。

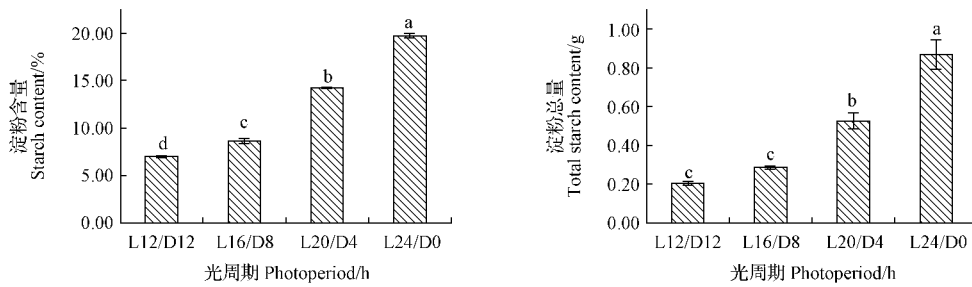


图 2 不同光周期对浮萍淀粉含量及淀粉总量的影响

Fig. 2 Effects of different photoperiod on starch accumulation and total starch content of duckweed

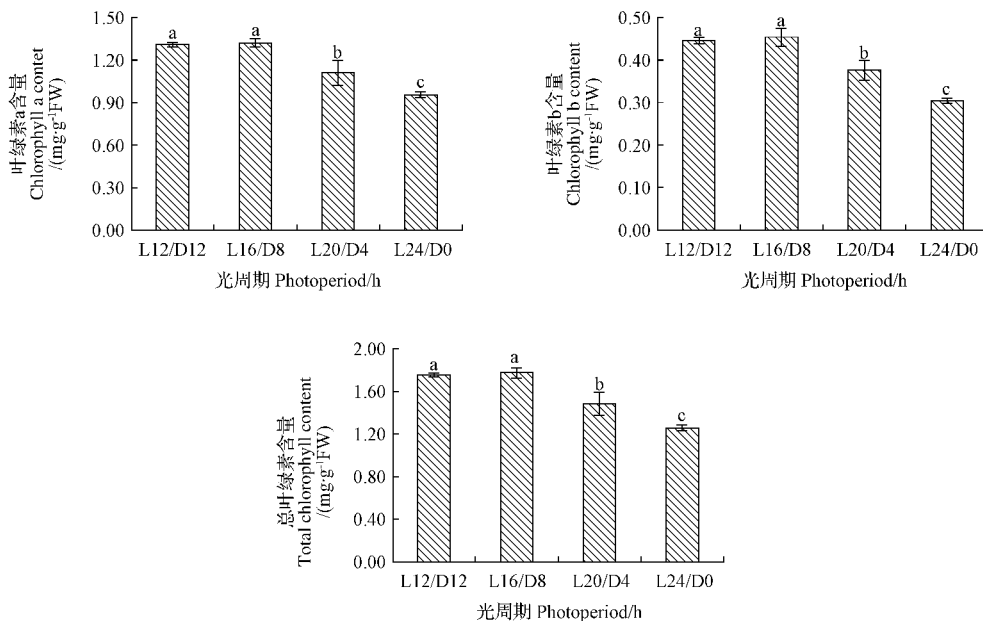


图 3 不同光周期对浮萍叶绿素 a、b 及总叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effects of different photoperiod on chlorophyll a, b and total chlorophyll content in duckweed

2.4 不同光周期对浮萍光合作用的影响

由图 4 可以看出,净光合速率随光周期的延长先增大后减小,在光周期为 L16/D8 时达到最大值,为 $8.88 \text{ CO}_2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,这也与叶绿素含量的变化趋势一致。说明不同的光周期对浮萍光合作用影响较大,适当延长光周期可以有效提高浮萍的光合作用,最终促进光合产物的积累,

从而促进植物的生长发育。

2.5 不同光周期对浮萍碳代谢关键酶活性的影响

由图 5 可知,AGPase 活性随着光照时间的延长而增强,在 L24/D0 光周期条件下酶的活性为 $16.74 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$,在 L12/D12 光周期条件下 AGPase 活性最低为 $10.63 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$

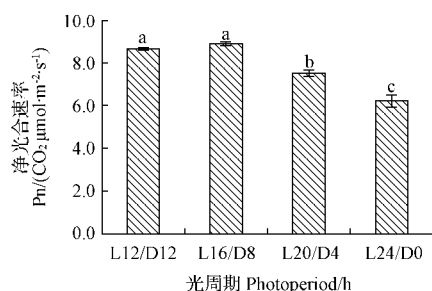


图 4 不同光周期对浮萍净光合速率的影响

Fig. 4 Effects of different photoperiod on the net photosynthetic rate of duckweed

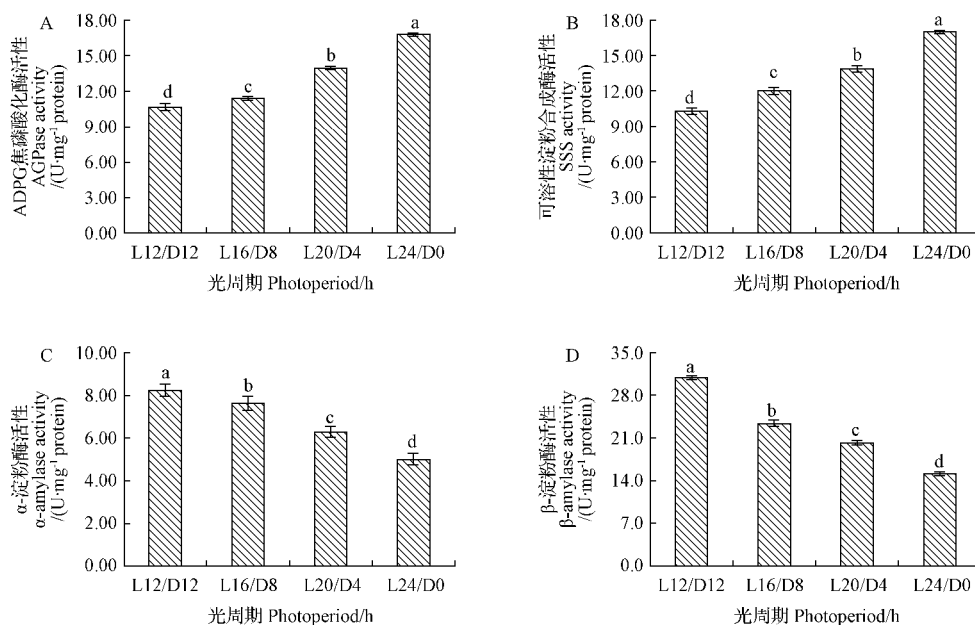


图 5 不同光周期下浮萍 AGPase, SSS, α-amylase and β-amylase 的活性变化

Fig. 5 Activities of AGPase, SSS, α-amylase and β-amylase in duckweed under different photoperiod

3 讨论

有研究表明适当延长光照时间有利于植物叶片生长发育和干物质积累^[12-13]。随光周期延长,浮萍进行光合作用的时间延长,产生更多的碳水化合物支持浮萍的生长发育。当延长光周期至 16 h·d⁻¹ 时,浮萍光合色素含量达到最大值, L24/D0 光周期条件下光合色素含量降到最小值,表明过长的光照时间不利于叶绿素的生物合成。该试验浮萍的净光合速率与叶绿素含量变化的趋势一致,推测原因可能是光照时间过长,会导

致浮萍气孔关闭,蒸腾速率降低,浮萍表面温度升高,进而导致浮萍的净光合速率下降。该研究结果表明,延长光照处理有利于浮萍淀粉的积累。日照时数越长越有利于植物可溶性糖、淀粉含量和可溶性蛋白质含量的积累^[14-15]。推测可能原因是随光周期的延长,浮萍的光合作用周期越久,积累的光合产物越多淀粉含量越高。该研究发现,延长光照时间够提高淀粉合成相关酶的活性,促进整个代谢过程向淀粉合成的方向进行,导致淀粉含量的提高。同时,延长光照时间降低了淀粉酶的活性,这与淀粉积累的趋势一致。这也解

(图 5A)。SSS 活性变化也随着光照时间的延长而增强, L24/D0 光周期条件下 SSS 活性最强,为 17.01 U·mg⁻¹ protein(图 5B)。
α-淀粉酶的活性随着光照时间的延长而降低,在 L24/D0 光周期条件下 α-淀粉酶的活性为最低,为 5.01 U·mg⁻¹ protein, L12/D12 光周期条件下 α-淀粉酶的活性最高,为 8.24 U·mg⁻¹ protein(图 5C)。β-淀粉酶活性变化与 α-淀粉酶活性变化趋势一致,也随着光照时间的延长而降低(图 5D)。

致浮萍气孔关闭,蒸腾速率降低,浮萍表面温度升高,进而导致浮萍的净光合速率下降。该研究结果表明,延长光照处理有利于浮萍淀粉的积累。日照时数越长越有利于植物可溶性糖、淀粉含量和可溶性蛋白质含量的积累^[14-15]。推测可能原因是随光周期的延长,浮萍的光合作用周期越久,积累的光合产物越多淀粉含量越高。该研究发现,延长光照时间够提高淀粉合成相关酶的活性,促进整个代谢过程向淀粉合成的方向进行,导致淀粉含量的提高。同时,延长光照时间降低了淀粉酶的活性,这与淀粉积累的趋势一致。这也解

释了淀粉积累的原因,淀粉合成的方向增强,淀粉降解的方向减弱。总体而言,7 d 内 $24 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 光周期较有利于浮萍生物量和淀粉含量的积累。

参考文献

- [1] SREACHINGER T, HEIMLICH R, HOUGHTON R A, et al. Use of US croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change[J]. *Science*, 2008, 319(5867): 1238-1240.
- [2] GNANSOUNOU E, DARUIAT A. Techno-economic analysis of lignocellulosic ethanol: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(13): 4980-4991.
- [3] BERGMANN B A, CHENG J, CLASSEN J, et al. *In vitro* selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation[J]. *Bioresource Technology*, 2000, 73(1): 13-20.
- [4] CHEN Y, YABLONSKI M, ERNST E, et al. Duckweed: An alternative starch source for bioethanol production[C]//ASABE Regional Annual Conference, May, 2007.
- [5] CHENG J J, STOMP A M. Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed[J]. *Clean-Soil, Air, Water*, 2009, 37(1): 17-26.
- [6] CHEN Q, JIN Y, ZHANG G, et al. Improving production of bioethanol from duckweed (*Landoltia punctata*) by pectinase pretreatment[J]. *Energies*, 2012, 5(8): 3019-3032.
- [7] 于昌江, 朱明, 马玉彬, 等. 新型能源植物浮萍的研究进展[J]. *生命科学*, 2014, 26(5): 458-464.
- [8] ZHANG L, ZHAO H, GAN M, et al. Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(6): 4573-4579.
- [9] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiology*, 1949, 24(1): 1-15.
- [10] LIU Y, FANG Y, HUANG M, et al. Uniconazole-induced starch accumulation in the bioenergy crop duckweed (*Landoltia punctata*) I: Transcriptome analysis of the effects of uniconazole on chlorophyll and endogenous hormone biosynthesis[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, 8(1): 57.
- [11] NAKAMURA Y, YUKI K, PARK S Y, et al. Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grains[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1989, 30(6): 833-839.
- [12] 徐超华, 李军营, 崔明昆, 等. 延长光照时间对烟草叶片生长发育及光合特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2013, 33(4): 763-770.
- [13] 鲍顺淑, 贺冬仙, 郭顺星. 可控环境下光照时间对铁皮石斛组培苗生长发育的影响[J]. *中国农业科技导报*, 2007, 9(6): 90-94.
- [14] 刘莎莎, 魏佑营, 王军伟, 等. 光周期对菠菜抽薹特性及可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响[J]. *山东农业科学*, 2009(10): 29-31.
- [15] 张欢, 章丽丽, 李薇, 等. 不同光周期红光对油菜芽苗菜生长和品质的影响[J]. *园艺学报*, 2012, 39(2): 297-304.

Effect of Different Photoperiod on the Growth and Starch Accumulation of Duckweed

CHEN Xiaoyi, YANG Qianye, ZHAO Qi

(School of Pharmacy and Biological Engineering, Chengdu University, Chengdu, Sichuan 610106)

Abstract: New energy plant duckweed was used as material, the effects of four different photoperiod treatments on the growth and starch accumulation of duckweed were studied. Four different photoperiod conditions were 12 h light+12 h darkness(L12/D12); 16 h light+8 h darkness(L16/D8); 20 h light+4 h darkness (L20/D4); 24 h light+0 h darkness (L24/D0). The results showed that extending photoperiod could accelerate biomass yield of duckweed, the biomass was 2.93, 3.32, 3.70, 4.39 g, respectively; and increasing the starch accumulation of duckweed, the starch percentage was 7.00%, 8.64%, 14.25% and 19.75%, respectively. Moreover, different photoperiod could affect chlorophyll content and net photosynthetic rate; the activities of key enzymes AGPase, SSS, α and β -amylase, which involved in starch metabolism were also changed. Based on above analysis, the best optimal photoperiods for biomass and starch accumulation of duckweed was full light L24/D0.

Keywords: duckweed; starch; biomass; photoperiod