

不同环境因子对异枝江蓠的生长及生化组分的影响

钟志海 黄中坚 陈伟洲*

(汕头大学海洋生物研究所, 汕头 515063)

摘 要 分别测定了在不同温度(18、23、28、33、38℃)、不同盐度(13、18、23、28、33、38)和不同光强(3000、6000、9000、12000 lx)的培养条件下,异枝江蓠藻体的相对生长速率和生化组分的变化。实验结果表明,异枝江蓠适合生长温度为 23 - 33℃,在此温度范围,藻体具有较高的相对生长速率(RGR),其藻胆蛋白和可溶性蛋白的含量较高,过氧化物酶(POD)的活力较低。异枝江蓠适合生长的盐度为 18 - 28,异枝江蓠对低盐的耐受能力高于高盐,6000 lx 是异枝江蓠的最适生长光强。

关键词 异枝江蓠;温度;盐度;光照强度;生长;生化组分

中图分类号 Q948.1 文献标志码 A 文章编号 1000-7075(2014)03-0098-07

Effects of various environmental factors on growth and biochemical components of *Gracilaria bailinae*

ZHONG Zhi-hai HUANG Zhong-jian CHEN Wei-zhou*

(Marine Biology Institute, Shantou University, Shantou 515063)

ABSTRACT *Gracilaria bailinae*, the genus *Gracilaria*, is a commercially important species of red seaweeds, and is currently farmed in the ponds along the coast of south China. It is commonly used as the food source in abalone aquaculture and employed for the extraction of agar as a raw material. However, the optimum growth conditions of *G. bailinae* are unclear. This study examined the physiochemical responses of *G. bailinae* to different levels of temperature, light and salinity to determine the suitable environmental conditions for the growth of *G. bailinae*. Thalli of *G. bailinae* were cultured under different conditions of temperatures (18℃, 23℃, 28℃, 33℃, and 38℃), salinities (13, 18, 23, 28, 33, and 38), and light intensities (3000 lx, 6000 lx, 9000 lx, and 12000 lx), and then the growth and biochemical components of the algal thalli were measured. The results showed that the optimum temperature for the growth of *G. bailinae* is in the range of 23 - 33℃. Under this temperature range, *G. bailinae* exhibited higher relative growth rate, higher contents of soluble protein and phycobiliprotein, and lower activity of peroxidase compared with other temperatures. The optimum salinity for the growth of *G. bailinae* is between 18 - 28, and *G. bailinae* displayed a higher tolerance to low salinity than to high salinity. The optimum light intensity for the growth of *G. bailinae* is 6000 lx. These results suggest that it is essential to choose suitable sea area or pond and season for successful mariculture.

国家海洋 863 计划项目(2012AA10A411)、科技部农业科技成果转化资金项目(2012GB2E000340)和广东省汕头市科技计划项目(2010-126; 2011-161)共同资助

* 通讯作者。E-mail: wzchen@stu.edu.cn

收稿日期:2013-04-21;接受日期:2013-06-14

作者简介:钟志海(1988-),男,硕士研究生,主要从事大型海藻生物学研究。E-mail: zhongzhikai1234@163.com

KEY WORDS *Gracilaria bailinae*; Temperature; Salinity; Light intensity; Growth; Biochemical components

异枝江蓠 *Gracilaria bailinae* Zhang et Xia 是江蓠属的一种经济海藻,多生长在中潮带到低潮带泥底或流动的水沟的贝壳或石砾上,在中国主要分布在广东省和海南省(夏邦美 1999),其主要用作鲍饲料和提取琼胶的原料(阎希柱等 2004;潘江球等 2010),适合在南方沿海池塘进行栽培。然而,目前国内外关于异枝江蓠的研究报道较少。关于江蓠的研究多集中在龙须菜 *G. lemaneiformis*(张学成等 2009)、脆江蓠 *G. chouae*(卢晓等 2013)、细基江蓠繁枝变型 *G. tenuistipitata* var. *liui*(许忠能等 2001)等方面,所以对于异枝江蓠培养条件的研究很有必要。作者通过研究温度、盐度和光照强度等环境因子对异枝江蓠的生长及生化组分的影响,探索适合异枝江蓠生长的温度、盐度和光强条件,为开展异枝江蓠的池塘栽培生产提供理论基础和技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料与培养

实验所用异枝江蓠为2012年8月采集于广东省汕头市濠江区青州盐场海水池塘(116°44'02" E, 23°15'53" N),带回实验室内进行培养。挑选健康无溃烂的异枝江蓠藻体1g(鲜质量)培养于1000ml三角烧瓶中,在智能型光照培养箱(GXZ-300D)中进行恒温培养。温度实验中的海水盐度为30,光照强度为6000lx,光:暗周期为12h:12h。实验共设置5个温度梯度(18、23、28、33、38℃);盐度实验中的海水温度为28℃,光照强度为6000lx,光暗周期为12h:12h,实验共设置6个盐度梯度(13、18、23、28、33、38);光照实验中的海水温度为28℃,盐度为30,共设置4个光强梯度(3000、6000、9000、12000lx)。每2d换1次灭菌海水并称鲜质量,实验中每个处理进行3次重复。

1.2 研究方法

藻体的生长用相对生长速率(Relative Growth Rate, *RGR*),即通过测定藻体在培养7d内鲜质量(*FM*)的变化来表示,*RGR*利用公式 $RGR(\%/d) = [\ln(M_t/M_0)/t] \times 100\%$ 求得。其中, M_0 为初始鲜质量, M_t 为 t 天后的 *FM*,藻体称量前用吸水纸吸干。

叶绿素 *a* 和类胡萝卜素含量测定采用乙醇法,根据 Porra(2002)的公式计算叶绿素 *a* (Chl-*a*) 的含量;根据 Parsons 等(1963)的公式计算类胡萝卜素(Car)的含量;

藻红蛋白(R-PE)和藻蓝蛋白(R-PC)含量的测定参考 Beer 等(1985)的方法;

可溶性蛋白含量利用考马斯亮蓝 G250 染色法测定(张志良等 2002);

POD 的活性参考张志良等(2002)测定。

1.3 数据处理

实验数据采用 One-way ANOVA(Turkey)或 T-test 分析,设显著水平为 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 不同环境因子对异枝江蓠生长的影响

2.1.1 温度对生长的影响

从图1可知,不同的温度培养条件对异枝江蓠的生长具有明显的影响。在18℃和38℃条件下,异枝江蓠的 *RGR* 明显小于其他温度条件($P < 0.05$);在18-33℃范围内,随着温度的升高,*RGR* 逐渐增加,当温度达到38℃时,*RGR* 迅速下降,说明高温对江蓠的生长产生了严重影响。可见适合异枝江蓠生长的温度为23-33℃,温度过高或过低都不利于异枝江蓠的生长。

2.1.2 盐度对生长的影响

从图2可以看出,适合异枝江蓠生长的盐度在18-28之间。异枝江蓠的RGR随着盐度的增加呈现先上升后下降的趋势。在盐度为18时,异枝江蓠具有最大RGR,说明盐度18是其生长的最适盐度,随着盐度的增加,RGR下降趋势明显,当盐度为33和38时,RGR下降比较明显($P < 0.05$),说明异枝江蓠对低盐的耐受性比高盐强。

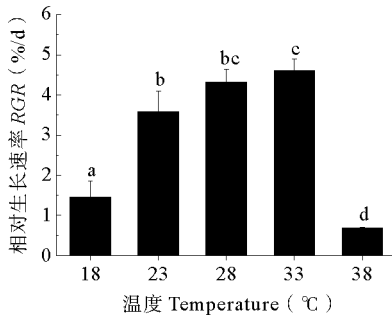


图1 不同温度对异枝江蓠相对生长速率的影响

Fig.1 Effects of different temperatures on relative growth rate of *G. bailinae*

不同的字母代表不同处理间

有显著性差异($P < 0.05$),下同

The different letters represent the significant difference among the treatments($P < 0.05$), the same as below

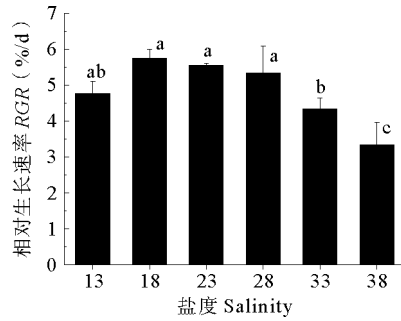


图2 不同盐度对异枝江蓠相对生长速率的影响

Fig.2 Effects of different salinities on relative growth rate of *G. bailinae*

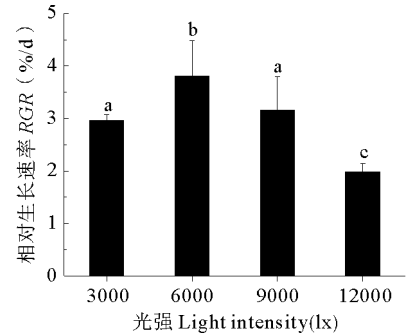


图3 不同光照强度对异枝江蓠相对生长速率的影响

Fig.3 Effects of different light intensities on relative growth rate of *G. bailinae*

2.1.3 光照强度对生长的影响

从图3可见,不同的光照强度对异枝江蓠的RGR造成了不同的影响,当光强为6000 lx时,具有最大的RGR,在6000-12000 lx范围内,随着光强的增加,RGR显著降低($P < 0.05$)。光强过高(12000 lx)或过低(3000 lx)都对异枝江蓠的生长造成了负面影响。

2.2 不同环境因子对异枝江蓠光合色素的影响

2.2.1 温度对光合色素含量的影响

从图4可以看出,在18-33°C范围内,温度变化对异枝江蓠藻体叶绿素a和类胡萝卜素含量的影响不显著($P > 0.05$)。随着温度的升高,叶绿素a和类胡萝卜素的含量略有增加;当温度为38°C时,叶绿素a和类胡萝卜素的含量迅速下降($P < 0.05$)。低温和高温均不利于藻胆蛋白的积累。18°C和38°C培养条件下的藻胆蛋白含量显著低于其他温度组($P < 0.05$),在温度为23°C时,藻胆蛋白的含量达到了最大值,随着温度的升高,藻胆蛋白的含量逐渐下降,当温度为38°C时,其含量降到了最低值,说明高温对藻体内的藻胆蛋白有一定的破坏。

2.2.2 盐度对光合色素含量的影响

如图5所示,异枝江蓠叶绿素a和类胡萝卜素的含量在低盐组(13-18)和高盐组(33-38)条件下显著高于中等盐度组(23-28)($P < 0.05$)。藻胆蛋白含量的最低值出现在盐度为33条件下,在盐度为18-28范围内,藻胆蛋白的含量相差不明显,在低盐组(13)和高盐组(38)下,藻胆蛋白的含量达到了最高值,显著高于其他盐度组($P < 0.05$)。结果表明,异枝江蓠在受到较高或者较低的盐度胁迫下,有利于它的光合色素含量的积累。

2.2.3 光照强度对光合色素含量的影响

从图6可以看出,当光强为6000 lx时,有利于藻体内光合色素含量的积累。叶绿素a在6000-12000 lx范围内,随着光强的增加,光合色素的含量明显下降($P < 0.05$),但在9000 lx和12000 lx这两个光强下,其差异不明显。类胡萝卜素含量的变化趋势与叶绿素a的一致,在高光(12000 lx)下,藻体的类胡萝卜素含量最低。在光强3000-9000 lx的范围内,藻胆蛋白的含量无明显变化,但在高光(12000 lx)下却显著下降($P < 0.05$)。因

此,高光照条件不利于异枝江蕨藻体光合色素的积累。

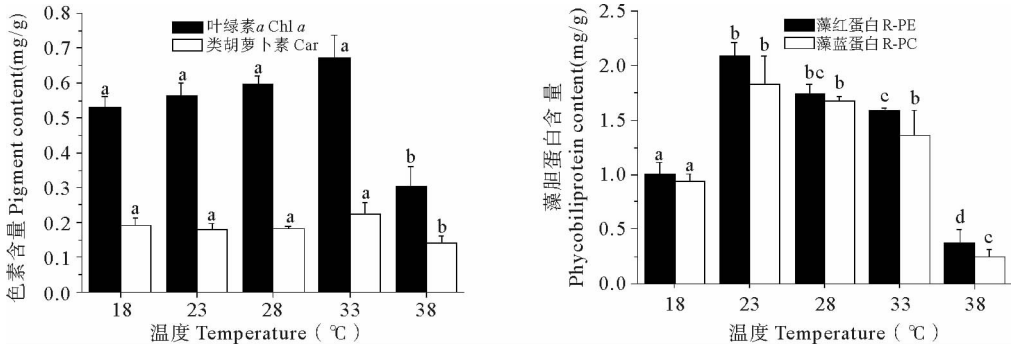


图4 不同温度对异枝江蕨光合色素含量的影响

Fig. 4 Effects of different temperatures on photosynthetic pigments of *G. bailinae*

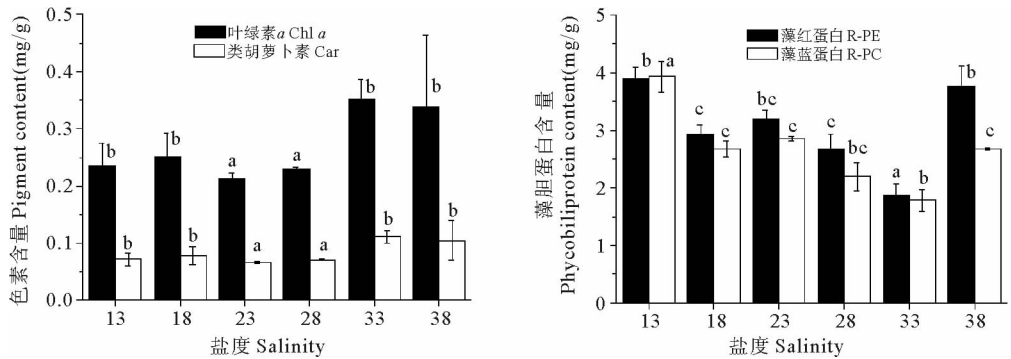


图5 不同盐度对异枝江蕨光合色素含量的影响

Fig. 5 Effects of different salinities on photosynthetic pigments of *G. bailinae*

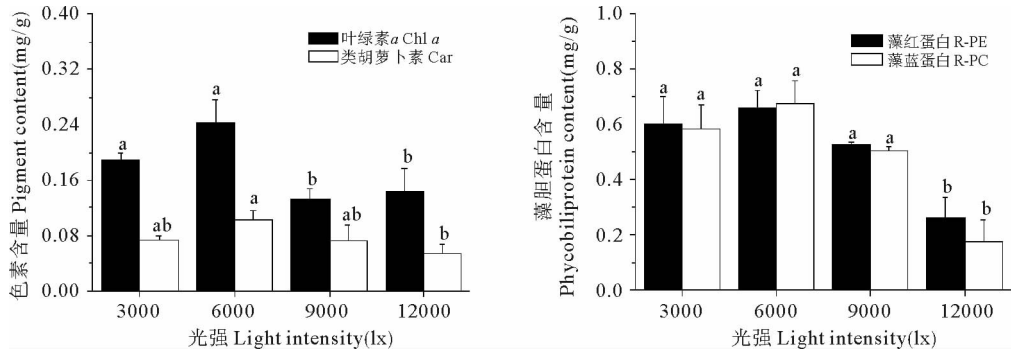


图6 不同光照强度对异枝江蕨光合色素含量的影响

Fig. 6 Effects of different light intensities on photosynthetic pigments of *G. bailinae*

2.3 不同环境因子对异枝江蕨可溶性蛋白和 POD 酶活性的影响

2.3.1 温度对可溶性蛋白含量和 POD 酶活性的影响

如图7所示,异枝江蕨的可溶性蛋白的含量在不同温度培养条件下发生变化,在23℃时最高,显著高于其他温度组的含量($P < 0.05$),并且可溶性蛋白含量在38℃时为最低($P < 0.05$),高温破坏了藻体内的可溶性蛋白。异枝江蕨的POD活性受温度变化的影响显著,当温度为23℃时,POD的活性处于最小值,与其他温度下的活性差异显著($P < 0.05$);在其他温度下,当温度为33℃时,POD的活性最大,但随着温度的升高,藻体POD的活性逐渐降低,但差异不显著($P > 0.05$)。

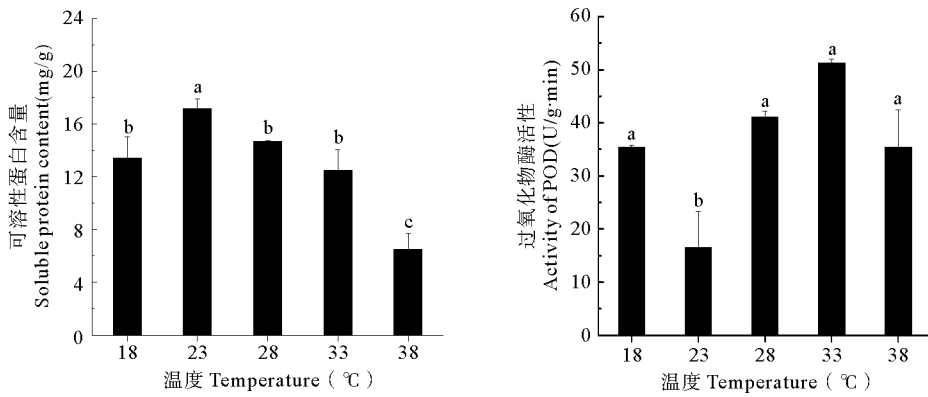


图7 不同温度对异枝江蕨可溶性蛋白含量和 POD 活性的影响

Fig. 7 Effects of different temperatures on the content of soluble protein and the activity of peroxidase of *G. bailinae*

2.3.2 盐度对可溶性蛋白含量和 POD 酶活性的影响

从图8可见,异枝江蕨在不同盐度培养下,可溶性蛋白的含量发生了显著的变化。可溶性蛋白的含量在中等盐度组(23-28)下低于低盐组(13-18)和高盐组(33-38),在盐度为28时,可溶性蛋白的含量最低。不同盐度对POD活性产生了不同的影响,在盐度为18和23条件下,POD的活性显著低于其他盐度条件下($P < 0.05$);POD的活性在低盐(13)和高盐(28-38)条件下有所提高,说明POD的活性明显受盐度变化的影响。

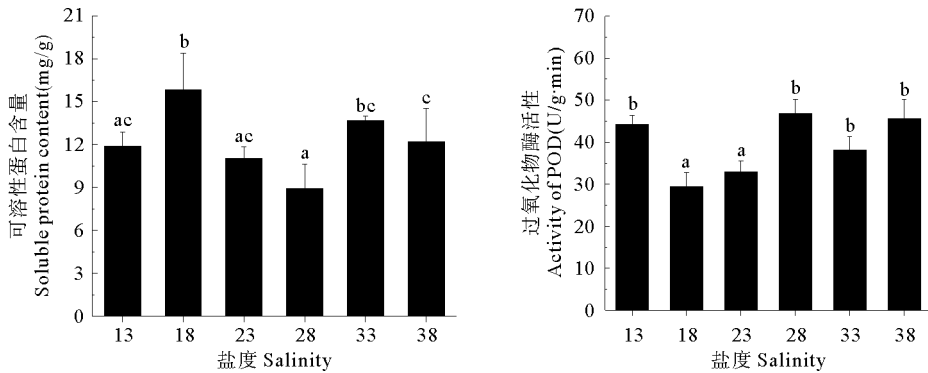


图8 不同盐度对异枝江蕨可溶性蛋白含量和 POD 活性的影响

Fig. 8 Effects of different salinities on content of the soluble protein and the activity of peroxidase of *G. bailinae*

2.3.3 光照强度对可溶性蛋白含量和 POD 酶活性的影响

从图9可见,在光强3000-9000 lx范围内,藻体内可溶性蛋白的含量变化不明显,在6000 lx时,可溶性蛋白的含量略有增加,3个光强之间差异不显著($P > 0.05$),在光强12000 lx下却有显著性下降($P < 0.05$)。

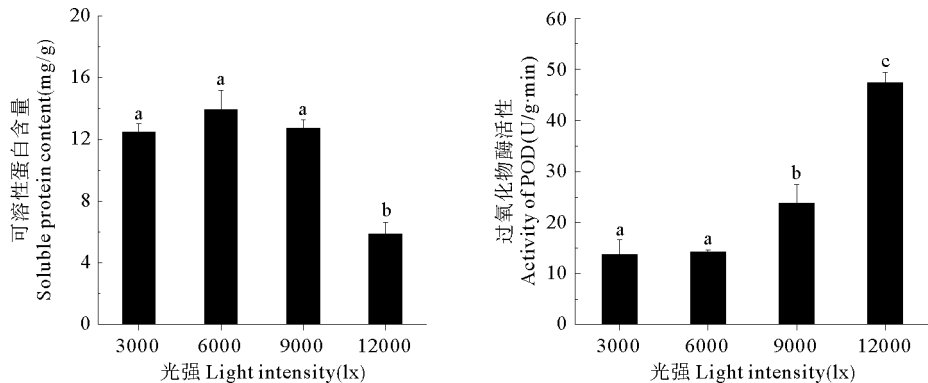


图9 不同光照强度对异枝江蕨可溶性蛋白含量和 POD 活性的影响

Fig. 9 Effects of different light intensities on the content of soluble protein and the activity of peroxidase of *G. bailinae*

随着光强的增加,藻体内的 POD 活性明显增加,在 12000 lx 时,POD 的活性达到了最大,在 6000、9000、12000 lx 这 3 个光强条件下,两两存在显著性差异($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 不同温度对异枝江蓠生长及生化组分的影响

生长指标是细胞内生物化学和生理学过程的综合体现(波钦诺克 1981),直接体现藻体的生长状态。本研究结果表明,异枝江蓠的最适生长温度是在 23 – 33℃ 范围内,而刘树霞等(2009)认为,25℃ 是龙须菜 *G. lemnaeiformis* 最合适的生长温度;刘静雯等(2001)在对细基江蓠繁枝变型的研究中发现,25℃ 是细基江蓠繁枝变型的最适温度,温度过低或过高都不利于藻体的生长。本研究表明,当温度过低(18℃)时,藻体的色素含量比较低,可能低温不利于异枝江蓠光合色素的合成,但当温度过高(38℃)时,色素的含量下降明显,说明高温破坏了色素的结构。红藻植物的光合色素主要是叶绿素 *a* 和藻胆蛋白,藻红蛋白在藻类中的生理功能主要是作为天线色素参与光合作用,直接捕获光量子。藻红蛋白将捕获的光量子顺次传递给藻蓝蛋白、异藻蓝蛋白,最后到叶绿素 *a*,在光系统中将光能转变为化学能,它的光能的传递效率高达 95% (郑蔚然 2008)。在低温条件下,藻体捕获的光量子较低,光能转化成化学能的量很少,因此在温度很低的情况下,藻体的生长受到限制。当温度过高(38℃)时,藻体的叶绿素 *a* 和藻胆蛋白的含量很低,光能转化量少,并且藻体的可溶性蛋白的含量下降,说明藻体中涉及到生长的关键酶的合成减少。在 23 – 33℃ 范围内,POD 的活性随着温度的升高而增加,在高温(38℃)时,藻体的过氧化物酶(POD)的活性是最高的,说明藻体在高温下产生了较多的自由基,在自由基的刺激下,藻体大量生成 POD,用于清除过氧化物,减少过氧化物对藻体的损伤(梁艳荣等 2003)。自由基一方面诱导 POD 活性的升高,同时又可直接攻击生物大分子,破坏蛋白质的分子结构,并可使酶活性丧失(Pallitt *et al.* 1992)。但是,藻体在 33℃ 下,POD 的活性是最高的,表明藻体在此温度下并未受到过氧化物的大量破坏,藻体在此温度下类胡萝卜素的含量是最高的,类胡萝卜素也能很好地保护藻体免受高温的破坏(Niyogi 1999),因而推测异枝江蓠对高温的耐受性上限可能是 33℃。

3.2 不同盐度对异枝江蓠生长及生化组分的影响

异枝江蓠经常在低盐的环境中被发现(Pondevida *et al.* 1996),而 Hurtado-Ponce 等(1997)也发现,盐度为 15 时,异枝江蓠生长最好。本研究结果表明,适宜异枝江蓠生长的盐度为 18 – 28,最适盐度为 23。这与 Hurtado-Ponce 等(1997)的研究结果有一定的差异,可能是研究的异枝江蓠材料存在地理差异。在盐度为 13 时,随着培养时间的增加,藻体的 *RGR* 有所降低,而在盐度为 33 和 38 时,异枝江蓠的 *RGR* 明显下降($P < 0.05$)。为了应对盐胁迫,植物主要通过吸收积累无机盐或者积累有机物来进行渗透调节(赵可夫 1993),维持细胞较高的渗透压,保证藻体的生长。异枝江蓠在高盐下,藻体为了应对盐胁迫,而大量积累小分子物质,消耗掉大量的能量,所以藻体的 *RGR* 相对有所下降。综上所述,异枝江蓠对低盐的耐受能力明显高于高盐。

3.3 不同光照强度对异枝江蓠生长及生化组分的影响

当光照强度为 6000 lx 时,异枝江蓠有最大的 *RGR*,而蒋雯雯(2010)在研究环境因子对菊花江蓠和细基江蓠繁枝变型生理生态学影响中发现,当光强为 6000 lx 时,细基江蓠繁枝变型对各化合态氮和磷有较高吸收速率,有利于藻体的生长,与本研究的结果相似。在这个光强下,藻体内光合色素的含量相对升高,从而藻体的光合能力比较强,促进了藻体的生长。当光照强度过高时(12000 lx),藻体内的光合色素也遭到了不同程度的破坏,藻体的生长受到一定的抑制。而藻体内这 3 种光合色素含量的多少,将直接影响到藻类光合作用的强度和光合产物的产量(姚南瑜 1987)。当光强过高时,藻体内 POD 的活性显著提高,说明藻体在强光的诱导下,藻体内自由基的含量显著增高,而藻体的保护性物质(类胡萝卜素和藻胆蛋白)的含量却呈下降趋势,不能有效地对藻体进行保护,从而藻体受到了损伤。

4 结论

综上所述,异枝江蕨生长的适宜温度是 23 – 33℃,适宜盐度是 18 – 28,光强是 6000 lx,异枝江蕨在此条件下具有较高的 *RGR*,过高或过低的温度、盐度和光照强度等条件都不利于它的生长。在生长状态、光合色素和抗氧化等方面,异枝江蕨在高温(28 – 33℃)、中等盐度(18 – 28)培养条件下的耐受能力较低温、高盐度时强。需要根据其适应温度、盐度和光照强度的条件,选择合适的池塘条件和生产季节,进行异枝江蕨的栽培生产。

参 考 文 献

- 卢晓,李美真,徐智广. 2013. 光照对脆江蕨生长及光合色素含量的影响. 渔业科学进展,31(4):145-150
- 许忠能,林小涛,计新丽,王朝晖,黄长江. 2001. 环境因子对细基江蕨繁枝变种氮、磷吸收速率的影响. 应用生态学报,12(3):417-421
- 刘树霞,徐军田,蒋栋成. 2009. 温度对经济红藻龙须菜生长及光合作用的影响. 安徽农业科学,37(33):16322-16324
- 刘静雯,董双林. 2001. 光照和温度对细基江蕨繁枝变型的生长及生化组成的影响. 青岛海洋大学学报(自然科学版),31(3):332-338
- 张学成,费修缙,王广策,林祥志,陈伟洲,隋正红,徐涂,臧晓南. 2009. 江蕨属海藻龙须菜基础研究与大规模栽培. 中国海洋大学学报(自然科学版),39(5):947-954
- 张志良,瞿伟菁. 2002. 植物生理学实验指导(第3版). 北京:高等教育出版社,123-124,159-160
- 郑蔚然. 2008. 坛紫菜 R-藻红蛋白的分离纯化及其稳定性研究. 见:浙江工业大学硕士学位论文,60-66
- 波钦诺克. 1981. 植物生物化学分析方法. 北京:科学出版社,23-27
- 姚南瑜. 1987. 藻类生理学. 大连:大连工学院出版社,300
- 赵可夫. 1993. 植物抗盐生理. 北京:中国科学技术出版社,149-158
- 夏邦美. 1999. 中国海藻志,红藻门,伊谷藻目,杉藻目,红皮藻目. 北京:科学出版社,31-34
- 梁艳荣,胡晓红,张颖力,刘湘萍. 2003. 植物过氧化物酶生理功能研究进展. 内蒙古农业大学学报,24(2):110-113
- 阎希柱,王桂忠,李少菁,林声盼,吴成业. 2004. 九孔鲍摄食江蕨与人工配合饲料的能量收支比较. 应用与环境生物学报,10(6):757-761
- 蒋雯雯. 2010. 环境因子对菊花江蕨和细基江蕨繁枝变型生理生态学影响的比较研究. 见:中国海洋大学硕士学位论文,5-6
- 潘江球,李思东. 2010. 江蕨的资源开发利用新进展. 热带农业科学,30(10):47-50
- Beer S, Eshel A. 1985. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. Austr J Mar Freshwater Res 36(6):785-792
- Hurtado-Ponce AQ, Pondevida HB. 1997. The interactive effect of some environmental factors on the growth, agar yield and quality of *Gracilariopsis bailinae* (Zhang et Xia) cultured in tanks. Botanica Marina 40:217-223
- Niyogi KK. 1999. Photo protection revised: genetic and molecular approaches. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 50(4):333-359
- Pallitt KE, Young AJ, Alscher RG. 1992. Antioxidants in higher plants. Boca Raton: CRC Press: 59-60
- Parsons TR, Strickland JDH. 1963. Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments, with revised equation for ascertaining chlorophylls and carotenoids. J Mar Res 21(3):155-163
- Pondevida HB, Hurtado-Ponce AQ. 1996. Assessment of some agarophytes from the coastal areas of Iloilo, Philippines I. Seasonal variations in the biomass of *Gracilaria changii*, *Gracilaria manilaensis* and *Gracilariopsis bailinae* (Gracilariales, Rhodophyta). Bot Mar 39:117-122
- Porra RJ. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynth Res 73(1-3):149-156