

不同培养条件对长紫菜叶状体生长及生理响应的研究

许俊宾¹, 陈伟洲^{1*}, 宋志民¹, 姜红霞², 朱建一², 陆勤勤³

(1. 汕头大学海洋生物研究所, 广东 汕头 515063;

2. 常熟理工学院, 江苏 常熟 215500;

3. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007)

摘要: 为探索长紫菜在不同培养条件下的生理响应, 研究了在不同温度、盐度和光照培养条件下长紫菜叶状体的生长及生理响应, 主要测定藻体的生长、光合色素、可溶性蛋白和丙二醛(MDA)含量、抗氧化酶活性等生理指标的变化。结果表明, 在培养温度为 17~20℃时, 长紫菜藻体可以保持较高相对生长速率, 当温度高于 23℃时, 其生长明显受到抑制, 藻体发红并出现溃烂; 长紫菜叶状体在盐度 25~35 下可以保持较快生长, 在低于盐度 25 的条件下, 藻体的光合色素、可溶性蛋白、丙二醛(MDA)的含量以及过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性均产生显著的变化, 并观察到藻体变薄、发白、腐烂现象; 在光照为 3 000~6 000 lx 时, 藻体生长速率较为稳定, 藻体在光照为 9 000 lx 条件下的叶绿素 a 含量低, 可溶性蛋白和 MDA 含量以及 POD 活性都出现显著增高, 并观察到发红及溃烂现象。因此, 适合长紫菜叶状体生长的温度为 17~20℃, 盐度为 25~35, 光照在 6 000 lx 左右。

关键词: 长紫菜; 温度; 盐度; 光照; 生长; 生理响应

中图分类号: Q 178.1; S 968.4

文献标志码: A

紫菜广泛分布于南北半球的暖温带海区, 是一种重要的经济红藻, 不仅具有食用价值, 而且具有药用价值, 在亚洲的中国、日本和韩国等都有大规模栽培。中国沿海已定名的紫菜物种或变种有 24 种, 浙江以北的海区栽培的品种为条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*), 以南的海区栽培的品种主要是坛紫菜(*P. haitanensis*)^[1]。

长紫菜(*Porphyra dentata*)属于红藻门(Rhodophyta)、红藻纲(Rhodophyceae)、红毛菜亚纲(Bangiophycidae)、红毛菜目(Bangiales)、红毛菜科(Bangiaceae)、紫菜属(*Porphyra*), 属雌雄异株种类, 叶状体呈长叶形, 成菜时长 20 cm 以上, 主要自然分布于浙江以南到广东海域^[2], 一般出现在高于坛紫菜分布的潮位上, 多与红毛菜分布在同一潮位, 为南方主要野生紫菜群体之一^[3-4]。研究长紫菜的生长及生理, 和坛紫菜开展栽培特性的比较研究, 对于开发和增加新的紫菜属栽培

物种具有重要的意义。

目前国内外对条斑紫菜或坛紫菜的研究文献较多, 尚未见关于长紫菜生理实验的报道, 仅见韩国的 Nam-Gil^[5] 和日本的 Notoya 等^[6] 分别对长紫菜进行生长及其生活史的研究。紫菜的生长受到温度、盐度和光照等环境因素的显著影响, 在适宜的温度、盐度和光照范围内紫菜会有较大的生长速率^[7-9], 因此, 本实验选择在不同温度、盐度和光照培养条件对长紫菜叶状体进行培养, 通过测定藻体的生长、光合色素、可溶性蛋白和丙二醛含量、抗氧化酶活性等生理指标的变化, 探索长紫菜在不同培养条件下的生理响应, 为长紫菜的栽培生产实践提供技术依据和参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

长紫菜于 2012 年 11 月在广东省汕头市南澳

收稿日期:2013-03-29 修回日期:2013-05-29

资助项目:国家自然科学基金项目(31272664); 广东省科技计划项目(2010B060201015); 汕头市科技计划项目(2010-126, 2011-161)

通信作者:陈伟洲, E-mail:wzchen@stu.edu.cn

岛深澳湾海域栽培筏架 (23° 28. 865' N, 117°06. 582'E), 实验材料为 2012 年 9 月底利用当年培育成熟的长紫菜贝壳丝状体采壳孢子, 附着培育出长紫菜苗帘。挑选苗帘上长度为 (10 ± 2) cm、无损伤、符合长紫菜特征的叶状体, 带回室内进行培养, 在 6 000 lx、20 °C 条件下, 用盐度为 32 的沙滤后暗沉淀的海水暂养 2 d, 然后进行单因素实验。

1.2 实验方法

挑选藻体完整、大小一致的长紫菜叶状体材料进行实验, 采用可控光温智能培养箱 (宁波江南仪器厂 GXZ-380B) 进行实验培养, 实验容器为 1 000 mL 三角烧瓶, 每组放入长紫菜藻体鲜质量约 2.0 g。温度实验设置 14、17、20、23 和 26 °C 5 个梯度组, 培养条件为盐度 30, 光照强度 6 000 lx。盐度实验设置 15、20、25、30 和 35 5 个梯度组, 培养条件为温度 20 °C, 光照强度 6 000 lx。光照实验设置 3 000、6 000 和 9 000 lx 3 个梯度组, 培养条件为温度 20 °C, 海水盐度 30。每个实验组设 3 个平行, 添加 NaNO₃、Na₂HPO₄ 和 Na₂HCO₃ 作为氮磷碳营养盐^[10], 光周期为 L:D = 12 h: 12 h, 每 2 天更换 1 次培养液。

实验通过测定叶状体的相对生长速率 (RGR) 来表示藻体的生长速率, 每隔 2 天测藻体鲜重, 利用公式: $RGR (\%/d) = [\ln(M_t/M_0)/t] \times 100$ 计算得到^[11]; 采用去掉边缘部分的叶状体进行生理指标测定: 叶绿素 a (Chl. a) 和类胡萝卜素 (Car) 采用甲醇进行提取, 根据 Porra^[12] 的公式计算 Chl. a 的含量, 根据 Parsons 等^[13] 的公式计算 Car 的含量; 藻体藻红蛋白 (R-PE) 和藻蓝蛋白 (R-PC) 的含量测定参考 Beer 等^[14] 的方法; 可溶性蛋白 (SP) 的含量采用考马斯亮蓝法^[15] 进行测定; 丙二醛 (MDA) 的含量采用硫代巴比妥酸

法^[16] 进行测定, 并做了适当调整, 配置 0.3% 的硫代巴比妥酸溶液浓度, 用 5 mL TCA 溶液进行提取 0.1 g 材料; 藻体过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚法进行测定^[17], 并做了调整, 用 5 mL KH₂PO₄ 溶液进行提取 0.1 g 材料; 藻体过氧化氢酶 (CAT) 活性采用紫外吸收法^[18] 进行测定, 采用 0.1 mol/L H₂O₂ 做为底物, 以光度值变化 0.1 为一个酶活力单位。

1.3 数据分析与统计

采用 Excel 和 Origin7.5 软件分析数据, 并用 One-Way ANOVA (T-test) 分析实验组间的显著性差异, 设显著性水平为 $P = 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 温度、盐度、光照对长紫菜 RGR 的影响

实验结果显示 17 °C 温度组的叶状体在培养期内一直保持着最高相对生长速率, 如图 1-a, 在第 6 天时达到最高 (5.71 %/d); 在其它温度组, 随着温度的升高, 后期 (4 d 后) 相对生长速率下降较快, 其中 26 °C 温度组在第 8 天时为 -2.82 %/d, 出现负增长, 叶状体出现变薄腐烂。

各盐度组叶状体在培养期间相对生长速率在不断上升, 前 2 天的生长都较快, 如图 1-b 所示, 盐度 30 组相对生长速率一直较高, 第 6 天达最高的 7.4 %/d; 盐度 15 组生长最缓慢, 到第 6 天时才达 2.61 %/d; 盐度 35 组相对生长速率持续上升至接近盐度 25 组。

在前 4 天培养中, 各光照组叶状体相对生长速率持续上升, 4 d 之后各组相对生长速率有所下降 (图 1-c), 其中 9 000 lx 光照组下降最快, 从 7.99 %/d 降到 1.17 %/d; 3 000 和 6 000 lx 光照组 4 d 后相对生长速率保持平稳, 其中 6 000 lx 光照组保持较高相对生长速率。

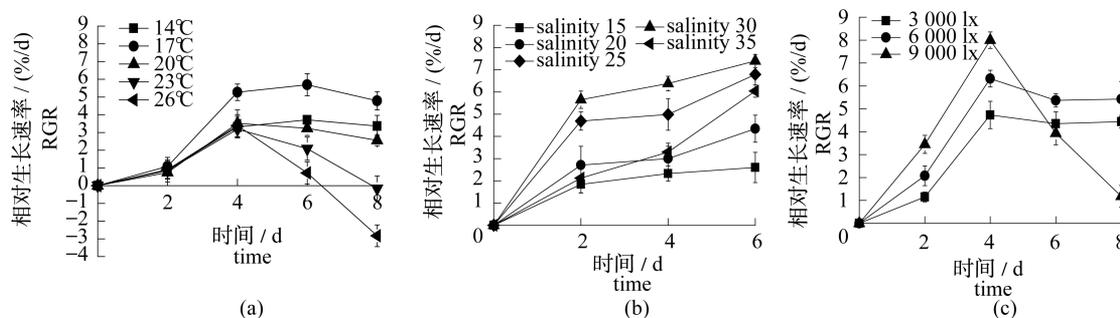


图 1 不同温度 (a)、盐度 (b) 和光照 (c) 对长紫菜相对生长速率的影响 ($n = 3$)

Fig. 1 Effects of different temperatures (a), salinity (b) and light intensity (c) on the RGR of *P. dentata*

2.2 温度对藻体生理组分的影响

叶状体 *Chl. a* 含量随温度的增加呈先稍微增加后显著下降的趋势(图 2-a),在 20 °C 温度组最高(1 398 $\mu\text{g/g}$),该组与 14、17 °C 温度组无显著性差异;超过 23 °C 后叶状体 *Chl. a* 含量下降明显,23 °C 温度组与前面 3 组低温组有显著性差异;26 °C 温度组 *Chl. a* 含量最低(1 002 $\mu\text{g/g}$),与其它温度组均有显著性差异。叶状体 *Car* 含量随温度的增加呈先降低后增加的趋势,在 17 °C 时含量最低(404 $\mu\text{g/g}$),26 °C 温度组的平均含量最高

(552 $\mu\text{g/g}$),与其它温度组有显著性差异。

叶状体 R-PE 含量在 17 °C 以后随温度增加呈现逐渐上升的趋势(图 2-b),在 17 °C 温度组最低(1 281 $\mu\text{g/g}$),26 °C 温度组含量达到最高(1 847 $\mu\text{g/g}$),该组与低温的 3 组实验组有显著性差异。叶状体 R-PC 含量在 17 °C 以后逐渐上升后趋于稳定,其中在 17 °C 温度组含量最低(772 $\mu\text{g/g}$),23 和 26 °C 温度组含量较高,两组之间无显著性差异。

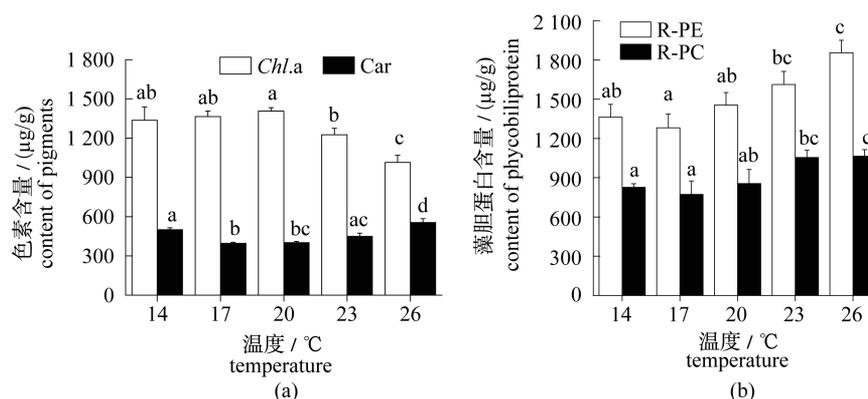


图 2 不同温度对长紫菜光合色素含量的影响 ($n=3$)

Fig. 2 Effects of different temperatures on content of pigments of *P. dentata*

从图 3-a 可以看出,叶状体可溶性蛋白含量在 17 °C 温度组含量最低(8.91 mg/g),低温或高温都导致可溶性蛋白含量升高,17 °C 之后的温度组随温度的升高而上升,23 和 26 °C 温度组与 17 °C 温度组有显著性差异。

由图 3-b 可见,长紫菜叶状体的 MDA 含量变化趋势与可溶性蛋白相似,在 17 °C 温度组最低(0.11 $\mu\text{mol/g}$),17 °C 之后,各温度组 MDA 含量呈现逐渐上升的趋势,到 26 °C 时达 0.22 $\mu\text{mol/g}$,17 °C 温度组与其它各温度组均有显著性差异。

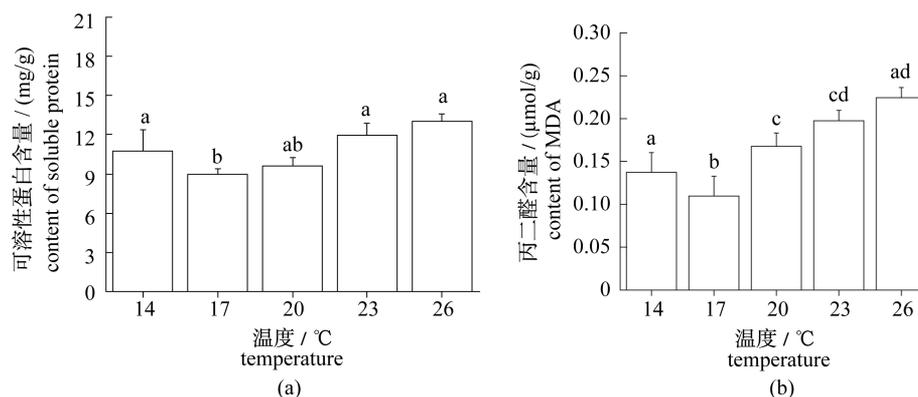


图 3 不同温度对长紫菜可溶性蛋白 (a) 和 MDA (b) 含量的影响 ($n=3$)

Fig. 3 Effects of different temperatures on content of soluble protein (a) and MDA (b) of *P. dentata*

如图 4 所示,叶状体 POD 活性在 20 °C 之前随着温度的升高逐渐降低,14 °C 时活性最高 [13.32 U/(g · min)],与 17 和 20 °C 温度组有显

著性差异,20 °C 时活性最低 [7.31 U/(g · min)];23 °C 温度组 POD 活性开始上升,但到 26 °C 温度组又下降至 7.82 U/(g · min)。各温

度组的 CAT 活性呈先上升后下降的趋势,在 23 °C 温度组活性最高 [20.71 U/(g·min)],与 14 °C 温度组和 26 °C 温度组有显著性差异。

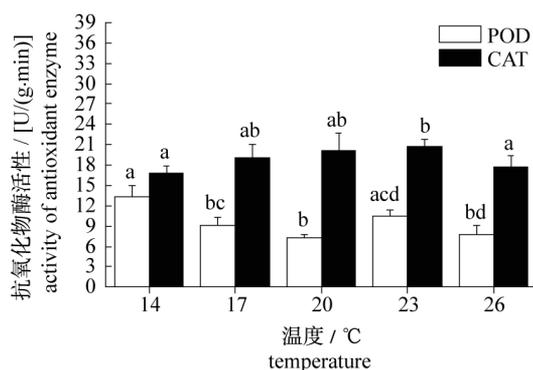
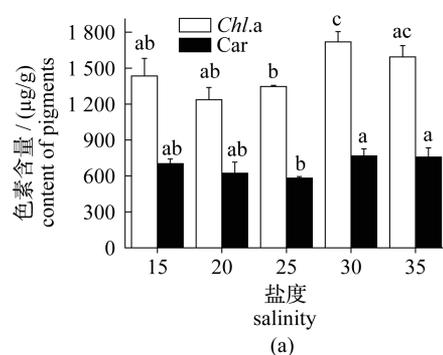


图 4 不同温度对长紫菜过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响 ($n=3$)

Fig. 4 Effects of different temperatures on activity of POD and CAT of *P. dentata*



2.3 盐度对藻体生理组分的影响

从图 5-a 可知,各盐度组 Chl. a 含量随着盐度的升高呈先下降后上升的趋势,到了盐度 35 时又下降了;以盐度 30 组含量最高 (1 719 µg/g),与低盐度实验组有显著性差异。各盐度组 Car 含量呈先下降后上升的趋势,盐度 25 组含量最低 (577 µg/g),与盐度 30 组和盐度 35 组有显著性差异。

各盐度组的 R-PE 含量随盐度升高呈先上升的趋势,如图 5-b 所示,在盐度 15 组时含量最低 (689 µg/g),在盐度 30 组时含量最高 (1 355 µg/g),盐度 15 组和盐度 20 组与其它盐度组有显著性差异。各盐度组 R-PC 含量呈逐渐上升趋势,以盐度 15 组含量最低 (735 µg/g),盐度 35 组含量最高 (1 229 µg/g);盐度 15 组和盐度 20 组与盐度 35 组有显著性差异。

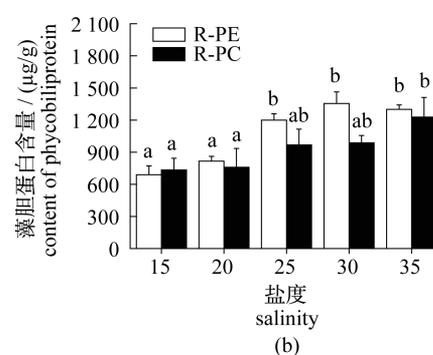
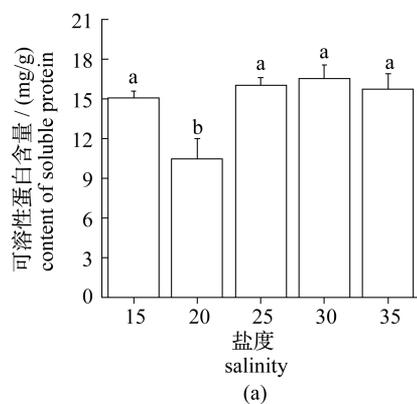


图 5 不同盐度对长紫菜光合色素含量的影响 ($n=3$)

Fig. 5 Effects of different salinity on content of pigments of *P. dentata*

各盐度组可溶性蛋白含量的变化如图 6-a 所示,盐度 20 组可溶性蛋白含量最低 (10.51 mg/g),该组与其它实验组有显著性差异;盐度 30 组含量最高,达 16.53 mg/g。



各盐度组 MDA 含量随盐度的升高呈下降的趋势(图 6-b),盐度越低 MDA 含量越高,以盐度 30 组含量最低 (0.18 µmol/g),与低盐度组有显著性差异;盐度 35 组 MDA 含量有所上升。

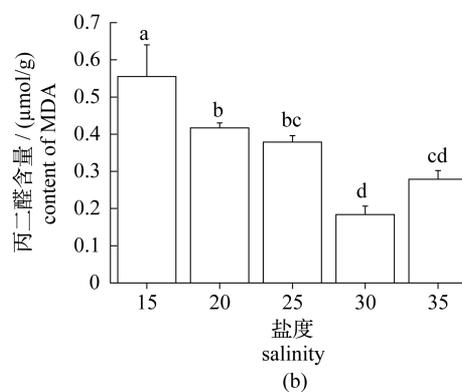


图 6 不同盐度对长紫菜可溶性蛋白 (a) 和 MDA (b) 含量的影响 ($n=3$)

Fig. 6 Effects of different salinity on content of soluble protein (a) and MDA (b) of *P. dentata*

从图 7 可知,各盐度组 POD 活性呈下降的趋势,到盐度 35 组含量又有所上升,以盐度 30 组活性最低[10.14 U/(g·min)],与其它各盐度组有显著性差异。各盐度组 CAT 活性在低盐实验组变化不明显,在盐度 35 组含量明显升高,达 34.00 U/(g·min),该组与其它盐度组有显著性差异。

2.4 光照对藻体生理组分的影响

图 8-a 表示各光照组的 *Chl. a* 含量随光照的增加呈下降的趋势,以 3 000 lx 光照组含量最高(1 586 $\mu\text{g/g}$),9 000 lx 光照组含量最低(1 266 $\mu\text{g/g}$);这两组之间存在显著性差异。各光照组以 6 000 lx 光照组 *Car* 含量最低(523 $\mu\text{g/g}$),9 000 lx 光照组含量最高(664 $\mu\text{g/g}$);9 000 lx 光照组与其它光照组间存在显著性差异。

各光照组 R-PE 含量呈逐渐上升的趋势,如图 8-b 所示,其中 3 000 lx 光照组含量最低(1 005 $\mu\text{g/g}$),9 000 lx 光照组含量最高(1 283

$\mu\text{g/g}$),这两组之间存在显著性差异。各光照组间以 3 000 lx 光照组 R-PC 含量最高(1 660 $\mu\text{g/g}$),该组与其它光照组有显著性差异。

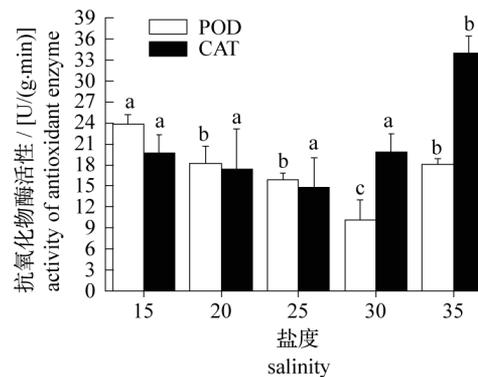


图 7 不同盐度对长紫菜过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响($n=3$)

Fig. 7 Effects of different salinity on activity of POD and CAT of *P. dentata*

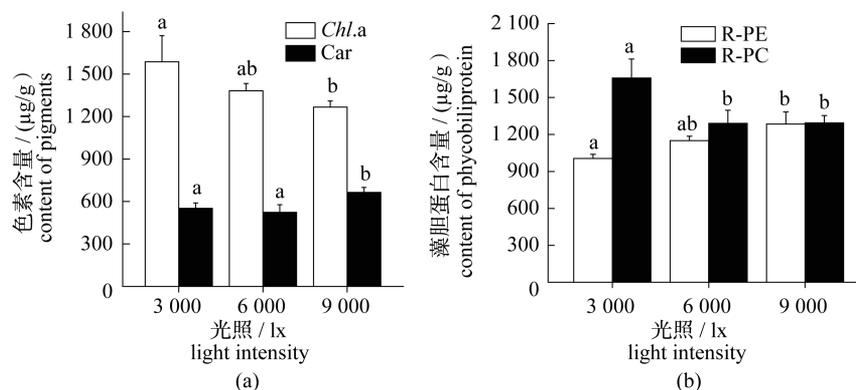


图 8 不同光照对长紫菜光合色素的影响($n=3$)

Fig. 8 Effects of different light intensity on content of pigments of *P. dentata*

从图 9-a 可知,各光照组的可溶性蛋白含量随光照的增加呈上升的趋势,以 9 000 lx 光照组含量最高(15.82 mg/g),该组与其它实验组存在显著性差异。

实验结果显示,各光照组表现出光照越大,MDA 含量越高(图 9-b),3 000 lx 光照组含量最低(0.18 $\mu\text{mol/g}$),9 000 lx 光照组最高(0.41 $\mu\text{mol/g}$),该组与其它实验组有显著性差异。

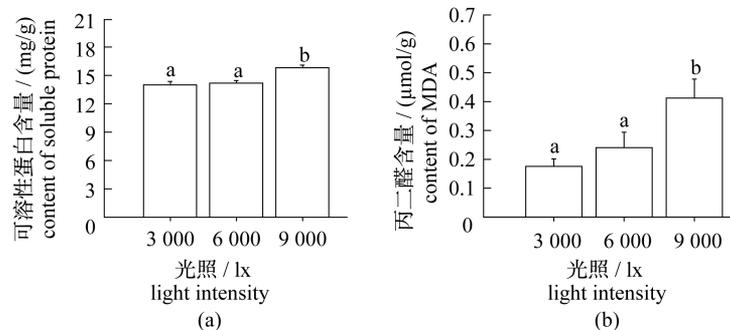


图 9 不同光照对长紫菜可溶性蛋白(a)和 MDA(b)含量的影响($n=3$)

Fig. 9 Effects of different light intensity on content of soluble protein(a) and MDA(b) of *P. dentata*

各光照组 POD 活性呈先下降后上升的趋势,如图 10 所示,6 000 lx 光照组活性最低[12.24 U/(g·min)],9 000 lx 光照组活性最高[18.40 U/(g·min)],各组之间均存在显著性差异。各光照组 CAT 活性呈先下降再上升的趋势,其中 3 000 lx 光照组活性最高[24.96 U/(g·min)],该组与其它两个光照组存在显著性差异。

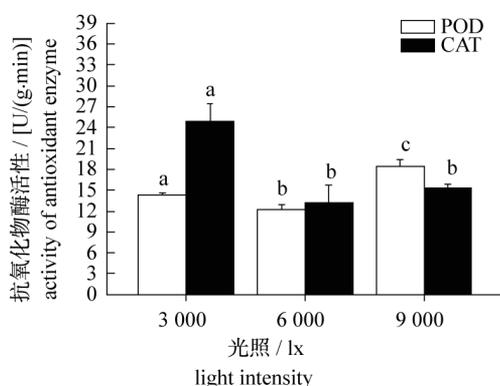


图 10 不同光照对长紫菜过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响 ($n=3$)

Fig. 10 Effects of different light intensity on activity of POD and CAT of *P. dentata*

3 讨论

3.1 温度对长紫菜叶状体生长的影响

温度是影响藻类分布和生长的重要因素,影响到藻体的光合系统、抗氧化系统以及藻体结构和组分。温度过高或过低都会减低藻体的光合作用能力以及自我保护能力,导致藻体生长发育缓慢,并出现一系列不良生理特征。

温度是影响紫菜生长的重要变量^[19-20],不同的紫菜种群间产生了不同的生物特点可能就是因为不同温度导致的^[21]。Nam-Gil^[5]在韩国对长紫菜藻体培养后,认为长紫菜适宜生长的温度为 10~15℃,在 15℃ 下生长速度最快,Notoya 等^[6]采用日本海区长紫菜做的生长实验则显示其适宜生长温度为 15~20℃,在 20℃ 时生长最快,而在本实验中,长紫菜叶状体在 17℃ 下生长速度最快,实验结果之间存在一定差异,这可能是与不同海区的长紫菜存在地理差异以及培养条件的不同有关。

3.2 盐度对长紫菜叶状体生长的影响

生长在高潮带的藻类可以迅速适应短时间盐度的变化^[22-23],紫菜是一种广盐性红藻,可以在

相对很大的盐度范围内生长^[19,24-25]。在养殖筏架上或自然环境中,我们会发现,紫菜在干露、雨天、大雾或干旱等盐度剧烈变化的条件下,也能够存活生长,甚至在淡水中浸泡数小时后亦能够在海水中恢复生长。但长期处于低盐或高盐胁迫环境下,引起失水或膨胀,将会影响藻体的光合作用和抗氧化能力,使藻体受到损害,不利于藻体的正常生长。

本实验发现盐度的变化会对长紫菜产生一定的影响,从自然养殖海区取回的长紫菜叶状体在盐度 30 时相对生长速率最高,在其它的盐度实验组,藻体亦有生长,但速度较慢。这与 Conitz 等^[25]对 *P. torta* 的研究结果以及 Katz 等^[19]对 *P. lieanis* 的研究结果相一致,这应该与其长期生长的自然环境有关。

3.3 光照对长紫菜叶状体生长的影响

光照是影响藻类生长的另一个重要因素^[8]。光照是植物光合作用的能量来源,对植物的生长、形态结构、光合作用和代谢活动有着重要影响。在适宜的温度下,光照越大,藻体吸收能量越多,光合产物越多,藻体生长也较快,但是超过适宜范围的光照反而会诱发过量活性氧,对藻体造成胁迫。

本实验发现,长紫菜藻体在低光照下 ($\leq 6\ 000$ lx) 一直保持较高相对生长速率;在 9 000 lx 的光照条件下,藻体虽然在短时间内 (4 d) 保持较高相对生长速率,但此后便急剧下降,藻体衰退很快,说明藻体细胞已不能维持正常生长。

3.4 不同培养条件对长紫菜叶状体产生的生理影响

不同培养条件对长紫菜叶状体的光合色素产生了显著的影响。在温度实验中,藻体 *Chl. a* 含量在 20℃ 时最高,温度的升高引起 *Chl. a* 含量的下降,但藻胆蛋白呈上升趋势,加上 *Car* 含量的升高,使得藻体外观发红。在低盐 (< 25) 条件下,长紫菜叶状体的 *Chl. a*、类胡萝卜素和藻胆色素的含量都下降了,藻体外观表现出色泽较淡,厚度变薄等特点,说明藻体光合作用能力减弱了。低光照会引起藻体 *Chl. a*、R-PE 和 R-PC 含量的上升^[20,26],以获得更多的能量,光照实验中,在低光照组发现长紫菜叶状体 *Chl. a* 和 R-PC 含量的上升。

植物受到逆性环境胁迫时,会引起膜脂氧化产物 MDA 含量和可溶性蛋白含量的上升。在温度实验中,随着培养温度的升高,温度越高,可溶性蛋白和 MDA 含量的含量越高,说明藻体受到了胁迫程度越严重。低盐度引起 MDA 含量的升高,说明藻体的膜脂受到的氧化越严重。在光照实验中,也发现了高光照实验组可溶性蛋白和 MDA 含量的显著上升。

超出适宜的生长条件,植物组织内会产生和积累过多的活性氧,进而诱发一系列氧化反应,对植物造成伤害,植物亦会通过加强或启动自身的抗氧化系统以避免或降低对组织造成的伤害,包括酶抗氧化物和非酶抗氧化分子^[27-28]。

Car 和藻胆蛋白等属于非酶抗氧化分子,也起到了抗氧化的作用。Car 是一类不饱和烯烃,既是辅助色素,亦具有抗氧化能力,本实验中观察到过高或过低的温度组、低盐度组以及高光照组,Car 含量都有所上升。藻胆蛋白不仅是红藻的光合作用重要的捕光色素,也能起到抗氧化的作用,消散过多的辐射能量,清除活性氧,并减少脂过氧化物^[29],温度太高、光照太强会引起 R-PE 含量会极大升高^[30],并且表现为 R-PE/*Chl. a* 比例的上升^[31],实验中都观察到了这种现象。

POD 和 CAT 是藻体清除活性氧的重要抗氧化酶。在温度实验中发现 POD 活性随温度的升高下降后上升又下降的趋势,在 26 °C 时,藻体外观已呈现出发红,局部出现溃烂,说明在长时间处于不适生长条件下,藻体的抗氧化系统已开始减弱,POD 和 CAT 酶活性都出现下降,而 MDA 含量则越高,这与张元等^[32]实验的结果相同。在盐度实验结束时,低盐实验组的 POD 活性较高,从而降低组织内过氧化物对藻体造成的伤害,这进一步说明了紫菜的广盐适应性。另外,高光照辐射也同样引起了 POD 活性的增强。

参考文献:

- [1] 张学成,秦松,马家海,等. 海藻遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社,2005:190-192.
- [2] 郑宝福,李钧. 中国海藻志(第2卷红藻门第1册紫球藻目,红盾藻目,角毛藻目,红毛菜目)[M]. 北京:科学出版社,2009:86-88.
- [3] 曾呈奎,张峻甫. 我国的紫菜与紫菜养殖[J]. 生物学通报,1956,5(3):29-33.
- [4] 张德瑞,郑宝福. 中国的紫菜及其地理分布[J]. 海洋与湖沼,1962,4(3-4):183-188.
- [5] Nam-Gil K. Culture studies of *Porphyra dentata* and *P. pseudolinearis* (Bangiales, Rhodophyta), two dioecious species from Korea [J]. *Hydrobiologia*, 1999,398-399(0):127-135.
- [6] Notoya M, Kikuchi N, Matsuo M, et al. Culture studies of four species of *Porphyra* (Rhodophyta) from Japan [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1993, 59(3):431-436.
- [7] Hannach G, Waaland J R. Growth and morphology of young gametophytes of *Porphyra abbottae* (Rhodophyta): Effects of environmental factors in culture [J]. *Journal of Phycology*, 1989, 25(2):247-254.
- [8] Yamamoto M, Watanabe Y, Kinoshita H. Effects of water temperature on the growth of red alga *Porphyra yezoensis form. narawaensis* (Nori) cultivated in an outdoor raceway tank [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1991, 57(12):2211-2217.
- [9] Kim G K, Kraemer G P, Neefus C D, et al. Effects of temperature and ammonium on growth, pigment production and nitrogen uptake by four species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) native to the New England coast [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2007, 19(5):431-440.
- [10] Wu T M, Lee T M. Regulation of activity and gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* Delile (Ulva, chlorophyta) in response to excess copper [J]. *Phycologia*, 2008, 47(4):346-360.
- [11] Kain J M. Seasonal growth and photoinhibition in *Plocamium cartilagineum* (Rhodophyta) off the Isle of Man [J]. *Phycologia*, 1987, 26(1):88-99.
- [12] Porra R J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the determination of chlorophylls a and b [J]. *Photosynthesis Research*, 2002, 73(1-3):149-156.
- [13] Parsons T R, Strickland J D H. Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments, with revised equation for ascertaining chlorophylls and carotenoids [J]. *Journal of Marine Research*, 1963, 21(3):155-163.
- [14] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae [J]. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 1985, 36(6):785-792.
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the

- quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [16] 张治安, 陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春: 吉林大学出版社, 2008: 192-193.
- [17] 张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 194-195.
- [18] 张蜀秋, 李云, 武维华, 等. 植物生理学实验技术教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011: 193-194.
- [19] Katz S, Kizner Z, Dubinsky Z, *et al.* Responses of *Porphyra linearis* (Rhodophyta) to environmental factors under controlled culture conditions [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, 12(3-5): 535-542.
- [20] Israel A. The extreme environments of *Porphyra*, a fast growing and edible red marine macroalga [M] // Seckbach J, Chapman D J, Eds. *Red Algae in the Genomic Age*. Holland: Springer Netherlands, 2010, 13: 61-75.
- [21] Zhang T, Shen Z G, Xu P, *et al.* Analysis of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence characteristics of different strains of *Porphyra yezoensis* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2012, 24(4): 881-886.
- [22] Russell G. Salinity and seaweed vegetation [M] // Crawford R M M. *Plant life in aquatic and amphibious habitats*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987: 35-52.
- [23] Kirst G O. Influence of salinity on algal ecosystems [M] // Wiessner W, Schnepf E, Starr R C, Eds. *Algae, environment and human affairs*. Bristol: Biopress Limited, 1995: 123-142.
- [24] Cole K M, Sheath R G. *Biology of the red algae* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1990: 147-170.
- [25] Conitz J M, Fagen R, Lindstrom S C, *et al.* Growth and pigmentation of juvenile *Porphyra torta* (Rhodophyta) gametophytes in response to nitrate, salinity and inorganic carbon [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2001, 13(5): 423-431.
- [26] López-Figueroa F, Niell F X. Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds [J]. *Marine Biology*, 1990, 104(2): 321-327.
- [27] Zubia M, Robledo D, Freile-Pelegrin Y. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2007, 19(5): 449-458.
- [28] Contreras-Porcia L, Thomas D, Flores V, *et al.* Tolerance to oxidative stress induced by desiccation in *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(6): 1815-1829.
- [29] Romay C H, González R, Ledón N, *et al.* C-phycoerythrin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects [J]. *Current Protein & Peptide Science*, 2003, 4(3): 207-216.
- [30] Contreras-Porcia L, Thomas D, Flores V, *et al.* Tolerance to oxidative stress induced by desiccation in *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(6): 1815-1829.
- [31] Talarico L, Maranzana G. Light and adaptive responses in red macroalgae: an overview [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology-Part B: Biology*, 2000, 56(1): 1-11.
- [32] 张元, 谢潮添, 陈昌生, 等. 高温胁迫下坛紫菜叶状体的生理响应 [J]. *水产学报*, 2011, 35(3): 379-386.

Effects of different culture conditions on growth and physiological response of *Porphyra dentata* thallus

XU Junbin¹, CHEN Weizhou^{1*}, SONG Zhimin¹, JIANG Hongxia², ZHU Jianyi², LU Qinqin³

(1. Marine Biology Institution, Shantou University, Shantou 515063, China;

2. Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China;

3. Institute of Oceanology and Marine Fisheries, Nantong 226007, China)

Abstract: *Porphyra dentata* is one of the main species of natural resources of *Porphyra*, which has high economic and medicinal value. It is meaningful to develop and increase new *Porphyra* cultivation by studying the ecological characteristics of *P. dentate*. In order to understand physiological responses of *P. dentate* cultured in different conditions, we studied the responses of *P. dentate* to different temperature, salinity and light intensity by determining the change about growth, photosynthetic pigments contents, soluble protein contents, malondialdehyde (MDA) contents and the peroxidase activity. The experimental results showed that, thallus was able to maintain a high relatively growth rate under 17 – 20 °C, when temperature was higher than 23 °C, the growth of thallus was inhibited, it turned to redness and appeared to fester. At salinity of 25 – 35, the thallus grew quickly under culture conditions, when culture salinity was lower than 25, the content of photosynthetic pigment, soluble protein, malondialdehyde (MDA) and the activity of peroxidase (POD) and catalase (CAT) of thallus was significantly changed, and thallus became thinner and whitish, its edge displayed decay phenomenon. The thallus had a high growth rate under culture light intensity of 3 000 – 6 000 lx, when the culture light intensity reached 9 000 lx, content of chlorophyll a of thallus was low, but the content of soluble protein and MDA and the activity of POD were significantly increased, the thallus began to fester after several days' culture. According to the result, we know that suitable culture conditions for *P. dentata* thallus are temperature of 17 – 20 °C, salinity of 25 – 35, and light intensity of 6 000 lx.

Key words: *Porphyra dentata*; temperature; salinity; light intensity; growth; physiological response

Corresponding author: CHEN Weizhou. E-mail: wzchen@stu.edu.cn