

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16285

光照强度和氮营养盐浓度对龙须菜生理代谢的影响

张清芳, 冯颖琪, 温金燕, 钟名其, 杜虹

汕头大学 理学院 生物系, 广东 汕头 515063

摘要: 以龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)为材料, 以无机氮($\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+ = 2 : 1$)为氮源配制人工海水, 将在低光低氮(L-N-)条件下培养的龙须菜部分给予高光照处理(L+N-), 同时另一部分在给予高光照的同时给予更充足的氮源(L+N+), 通过测定 3 种不同处理条件下物质积累、光合色素以及碳氮代谢中的关键酶等多种生理指标, 探讨光照强弱与氮源多寡对龙须菜生理代谢的影响。结果表明, 在低氮培养时, 高光可使藻体可溶性蛋白、含水率、藻红蛋白和叶绿素 a 的含量下降, 而可溶性糖含量上升 13.67%; 高光培养时, 高氮使可溶性蛋白、含水率、藻红蛋白和叶绿素 a 的含量上升, 而可溶性糖含量下降 16.3%; 相对于低光低氮(L-N-), 高光高氮(L+N+)条件培养使藻体中可溶性蛋白和藻红蛋白含量增加, 其含水率、叶绿素 a 和可溶性糖含量并无显著性差异($P > 0.05$)。从上述结果可以看出, 补充氮源能够在一定程度上消除高光照对藻体产生的影响, 保证藻体基本生理状态不发生变化的情况下积累蛋白(氮源)。同时补充氮源使得谷氨酰胺合成酶(GS)和天庚酮糖-1, 7-二磷酸酶(SBPase)的表达均下调, 也反映了光合作用所产生的三碳化合物在氮源充足的条件下主要流向了氮循环。而高光照并未对碳氮代谢关键酶的表达产生影响, 可能通过直接破坏叶绿素 a 而影响藻体的光合作用。

关键词: 龙须菜; 光照强度; 氮源; 生理指标

中图分类号: S968

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)05-1065-07

龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)隶属于红藻门(Rhodophyta), 杉藻目(Gigartinales), 江蓠属, 目前作为生长快、经济价值高、琼胶含量高的海藻在中国东南沿海大规模养殖, 成为继海带、紫菜之后的第三大经济海藻^[1]。龙须菜等大型海藻栽培产业化日益增大, 环境因子的变化直接影响到大型海藻的产量和质量, 如非生物因子的温度、光照至环境中的营养盐(N、P)等。林贞贤等^[2]发现弱光更利于龙须菜生化组分的积累。光还能够刺激大型海藻[如巨藻(*Macrocystis*)]和一些微藻对 NO_3^- 的吸收^[3], 龙须菜对无机磷(Pi)的吸收同样受到光照的影响, 黑暗和过强的光照都不利于龙须菜对 Pi 的吸收^[4]。随着夏季来临, 笔者发现, 南澳养殖区仅表层的龙须菜出现了变绿甚至变白的情况, 而内层则为正常的暗红色, 推测可能与光照强度有关。经过预实验发现, 人为补充氮源

能够改善藻体的生长状态, 为此, 本研究以龙须菜为试验材料, 探讨氮源对高光照条件下龙须菜的作用, 从而提高龙须菜养殖效益提供理论基础和可靠的参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

龙须菜由汕头大学南澳实验站提供, 当天运回实验室, 然后去除杂藻, 用过滤海水反复清洗后放入光照培养箱, 温度(20 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 光照强度 800 lx, 光周期 L : D 为 14 h : 10 h 下培养。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计 首先分别称取 12 g 健康藻体于 6 个规格为 28 cm \times 27 cm \times 18 cm 的塑料培养箱中用人工海水(盐度 30, pH 8.0, 氮营养盐浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$) 在 800 lx 预培养 1 周, 之后开始正式实验, 从 0 d

收稿日期: 2016-09-22; 修订日期: 2016-12-15.

基金项目: 广东省海洋与渔业局科技推广专项项目(A201405B06).

作者简介: 张清芳(1989-), 女, 硕士, 从事植物生理研究. E-mail: zhangqingfang0629@163.com

通信作者: 杜虹(1976-), 教授, 硕士生导师. E-mail: hdu@stu.edu.cn

开始计,第 1 周培养条件与预培养实验条件相同(800 lx, 10 $\mu\text{mol/L}$, L-N-组),第 6 天时将光照培养箱的光照强度由原来的 800 lx 调为 3000 lx,其中的 3 个塑料培养箱中的氮浓度保持不变(3000 lx, 10 $\mu\text{mol/L}$, L+N-组),同时改变另外 3 个塑料培养箱的氮营养盐浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ (3000 lx, 500 $\mu\text{mol/L}$, L+N+组)。实验周期为 3 周,每两天更换 1 次海水并在光周期的光照结束前取样,用于龙须菜可溶性蛋白(SP)、含水率(water ratio)、可溶性糖(SC)、藻红蛋白(PE)以及叶绿素 a(chlorophyll a)的含量测定,以及分析龙须菜在 3 种条件下藻体碳氮代谢关键酶谷氨酰胺合成酶(GS)、核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)和景天庚酮糖-1,7-二磷酸酶(SBPase)的蛋白表达情况。

1.2.2 可溶性蛋白的测定 称取龙须菜 0.5 g 于研钵中,置于液氮下研磨 3 次成粉末状,用 1.5 mL 磷酸缓冲液研磨成匀浆,将其转移至 2 mL 离心管中,4℃下 12000 r/min 离心 20 min,上清液转移到新的离心管中,上清液即为可溶性蛋白溶液,可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法(南京建成生物工程研究所产品 A045)。

1.2.3 含水率的测定 称取龙须菜 0.2 g,用电子天平测量记录其准确湿重(FW),然后将其放置于烘箱中 60℃烘至恒重,用电子天平测量其干重(DW),计算公式为含水率=
$$\frac{FW - DW}{FW} \times 100\%$$

1.2.4 蒽酮法测定可溶性糖含量 根据文献[5]的方法,取 100 $\mu\text{g/L}$ 标准葡萄糖溶液分别稀释成 0 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 120 $\mu\text{g/mL}$, 160 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$ 7 个不同浓度的溶液,取 1 mL 梯度标准液分别加入 5 mL 蒽酮溶液,沸水浴 10 min,冷却至室温,在 625 nm 下测定吸光值,绘制标准曲线;取 0.2 g 新鲜的龙须菜,液氮将其研磨成匀浆后置于 10 mL 离心管,加入 8 mL ddH₂O 80℃水浴 2 h,然后 5000 r/min 离心 10 min 取上清,取 1 mL 上清加入 10 mL ddH₂O (即稀释 11 倍),即为可溶性糖样液;取干净试管,加入 1 mL 滤液,5 mL 蒽酮溶液,沸水浴 10 min,冷却至室温,在 625 nm 测定吸光值。

1.2.5 藻红蛋白和叶绿素 a 的测定 藻红蛋白的

测定:根据文献[6]的方法,将 0.5 g 龙须菜于研钵中研磨成粉末,用 0.1 mol/L、pH=6.8 的磷酸缓冲液 1.5 mL 分 3 次冲洗细粉状的龙须菜,每次 0.5 mL,且每次将液体充分收集液体装入 2.0 mL 聚丙烯离心管中,4℃下 11000 r/min 离心 30 min,上清用于藻红蛋白的测定,读取 564 nm、730 nm、618 nm 处的吸光值,藻红蛋白浓度 R-PE(mg/mL)=
$$0.1247 [(A_{564} - A_{730}) - 0.4583 (A_{618} - A_{730})] \times N$$
,N 为稀释倍数。叶绿素 a 的测定:将上述离心沉淀物质取出,加 8 mL DMF (二甲基甲酰胺),4℃萃取 24 h,6000 r/min 离心 10 min 后,读取 625 nm、647 nm、664 nm 和 750 nm 处的吸光值,叶绿素 a 的含量 $\rho(\text{Chla, mg/g}) = [12.65(A_{664} - A_{750}) - 2.99(A_{647} - A_{750}) - 0.04(A_{625} - A_{750})] \times Ve / (I \times W \times 1000)$,Ve 为萃取液(DMF)的体积(8 mL),I 为比色皿的光径(cm),W 为所取藻体的干重(g)。

1.2.6 碳氮代谢酶的测定 称取龙须菜 0.5 g 于研钵中,置于液氮下研磨 3 次成粉末状,用 1.5 mL 提取缓冲液(提取液的配方^[7]: 25 mmol/L Tris, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT, 0.1% β -巯基乙醇, 1 mmol/L 还原型谷胱甘肽, 10 mmol/L MgSO₄, 5 mmol/L 谷氨酸, 2% PVP, 0.01% Triton)研磨成匀浆,将其转移于 2 mL 离心管中,4℃下 12000 r/min 离心 20 min,上清液转移到新的离心管中,上清液即为粗酶液。GS、Rubisco、SBPase 蛋白含量的测定采用 Elisa 试剂盒,购自上海颖欣实验室设备有限公司。

1.3 数据处理

结果所获得的柱状图用图形软件 GraphPad Prism 生成,统计学检验采用单因素方差分析,在 $\alpha=0.05$ 水平进行差异显著性检验,用 SPSS 19.0 完成。

2 结果与分析

2.1 不同氮浓度和光照强度对龙须菜生理特征的影响

在 L-N-、L+N-、L+N+组培养 1 周的情况下,龙须菜可溶性蛋白的平均含量分别为 47.67 mg/g、36.92 mg/g、68.94 mg/g。L+N-组相对 L-N-组可溶性蛋白含量下降 22.55% ($P>0.05$),说明在氮源一定的条件下给予高光照可使龙须菜中的可溶性

蛋白下降; 而 L+N+ 组相对于 L-N- 组上升 44.62% ($P < 0.01$), 相对 L+N- 组上升 87.44% ($P < 0.01$) (图 1), 说明高氮条件下可溶性蛋白在龙须菜内积累。高光照对低氮营养的藻体蛋白造成一定程度的破坏, 而充足的氮源则有利于蛋白的积累。

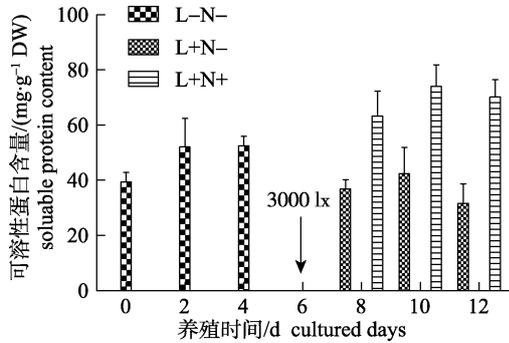


图 1 不同处理对龙须菜可溶性蛋白含量的影响
Fig. 1 Effects of different treatments on the soluble protein content of *Gracilaria lemaneiformis*

在 L-N-、L+N-、L+N+ 组培养 1 周的情况下, 龙须菜的平均含水率分别为 82.83%、79.06%、81.94%。不同处理条件下含水率变化不大, 但 L+N- 组相对 L-N- 含水率下降 ($P < 0.01$), 而 L+N+ 组相对 L-N- 组含水率没有显著变化 ($P > 0.05$), 相对 L+N- 组则上升 ($P < 0.01$, 图 2), 说明高光照导致藻体含水率的下降, 而充足的氮源能保证藻体的高含水率, 使得藻体细胞能够处于较活跃的状态。

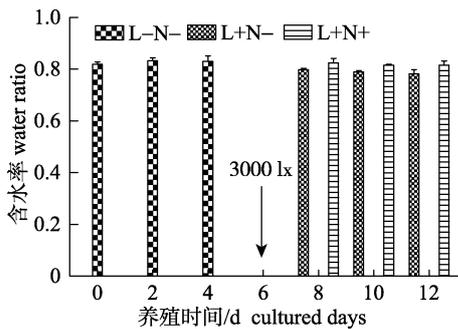


图 2 不同处理对龙须菜含水率的影响
Fig. 2 Effects of different treatments on the water ratio of *Gracilaria lemaneiformis*

在 L-N-、L+N-、L+N+ 组培养 1 周的情况下, 龙须菜可溶性糖的平均含量分别为 167.87 mg/g、190.81 mg/g、159.68 mg/g。L+N- 组相对 L-N- 组可溶性糖含量上升 13.67% ($P < 0.05$), 即在低氮条

件下, 高光照使得龙须菜体内的可溶性糖积累, 反映了在氮源一定的条件下高光照使得藻体碳代谢加强, 而光强不足时, 光合碳同化过程则由于同化力短缺则受到限制; L+N+ 相对 L+N- 组水平下降 16.3% ($P < 0.01$), 但与 L-N- 组无显著性差异 ($P > 0.05$, 图 3)。可溶性糖在高光照条件下积累, 而补充氮源则不利于可溶性糖的积累。

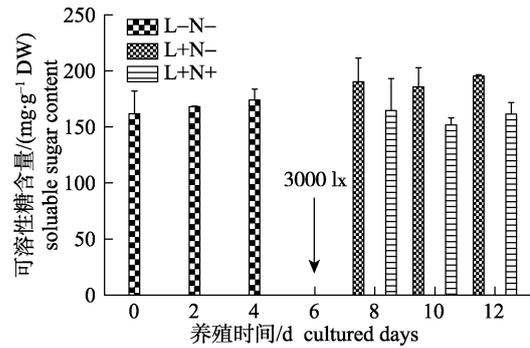


图 3 不同处理对龙须菜可溶性糖含量的影响
Fig. 3 Effects of different treatments on the soluble sugar content of *Gracilaria lemaneiformis*

在 L-N-、L+N-、L+N+ 组培养 1 周的情况下, 龙须菜藻红蛋白的平均含量分别为 6.43 mg/g、5.14 mg/g、8.54 mg/g。L+N- 组的藻红蛋白含量在受到高光之后呈现持续下降的趋势, 至第 12 天降至 4.27 mg/g, 而 L+N+ 组在第 8 天时的藻红蛋白含量同 L-N- 组第 4 天的藻红蛋白含量相比, 并没有表现为积累, 这可能是因为高光照对龙须菜藻红蛋白的破坏要早于藻红蛋白的积累过程。当龙须菜从环境中获得的无机氮有足够的时间转化为有机氮时藻红蛋白得到积累, 至第 10 天时 L+N+ 的藻红蛋白的积累达到最大值为 9.64 mg/g (图 4)。

在 L-N-、L+N-、L+N+ 组培养 1 周的情况下, 龙须菜叶绿素 a 的平均含量分别为 1.09 mg/g、0.72 mg/g、1.05 mg/g。L+N- 组的在受到高光之后呈现下降的趋势, 至第 10 天降至 0.65 mg/g, 而 L+N+ 组则是先下降后上升再下降的趋势, 其叶绿素 a 的总体水平和 L-N- 的叶绿素 a 无显著性差异 ($P > 0.05$)。L+N- 组的叶绿素 a 含量变化同其藻红蛋白的变化一致, 在受到高光之后呈现下降的趋势, 而 L+N+ 组叶绿素 a 的含量则由于氮源的补充而得到补给 (图 5)。

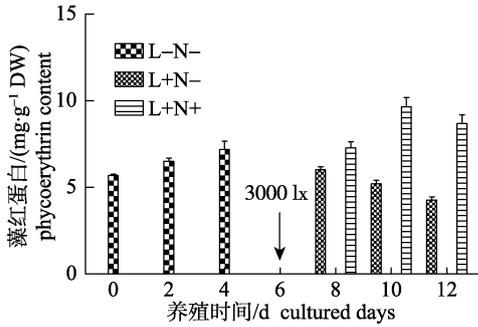


图 4 不同处理对龙须菜藻红蛋白含量的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on the phycoerythrin content of *Gracilaria lemaneiformis*

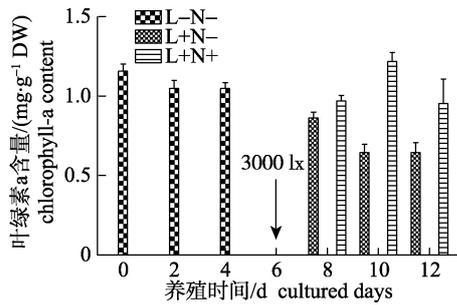


图 5 不同处理对龙须菜叶绿素 a 含量的影响

Fig. 5 Effects of different treatments on the chlorophyll a content of *Gracilaria lemaneiformis*

2.2 不同氮浓度和光照强度对龙须菜碳氮代谢相关酶表达量的影响

在 L-N-、L+N-、L+N+ 组培养 1 周的条件下, GS 的表达量分别为 1.97 U/g、1.90 U/g、1.59 U/g, L-N- 和 L+N- 组 GS 的表达量无明显差异 ($P > 0.05$), 而 L+N+ 相对 L-N- 和 L+N- 下降约 18% ($P < 0.05$) (图 6)。这说明龙须菜 GS 的表达在高氮条件下受到抑制, 这可能是因为 GS 的表达受到有机氮源等产物的负反馈调节, 从而表现出 L+N+ 组 GS 表达量的下降。L-N-、L+N-、L+N+ 组培养条件下, Rubisco 的表达量并没有表现出差异性 (图 7), 而 L+N+ 组相对 L-N- 和 L+N- 组 SBPase 有明显的下降 ($P < 0.05$) (图 8), 这说明卡尔文循环中 1, 5-二磷酸核酮糖 (RuBP) 的再生受到抑制, 这和 L+N+ 组可溶性糖含量的下降相一致 (图 3)。

3 讨论

3.1 不同氮浓度和光照强度对龙须菜碳氮物质积累的影响

光照、氮营养是影响海藻生长的两个重要因

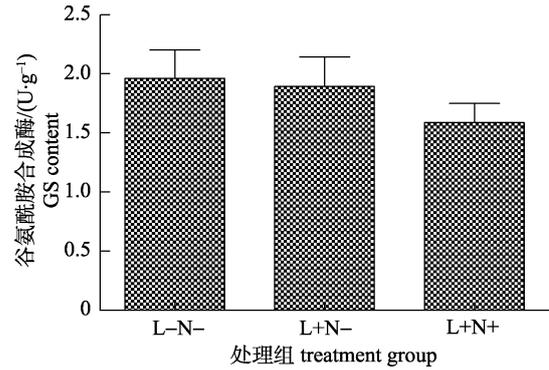


图 6 不同处理对龙须菜谷氨酰胺合成酶表达量的影响

Fig. 6 Effects of different treatments on the GS quantity of *Gracilaria lemaneiformis*

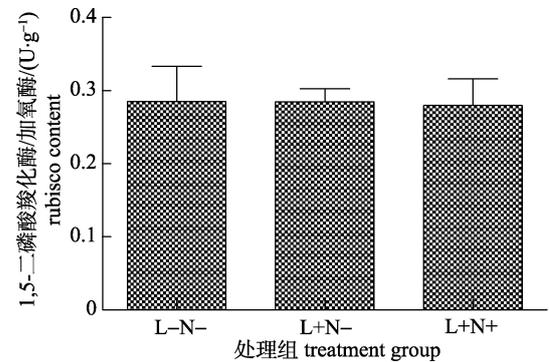


图 7 不同处理对龙须菜核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶/加氧酶表达量的影响

Fig. 7 Effects of different treatments on the rubisco quantity of *Gracilaria lemaneiformis*

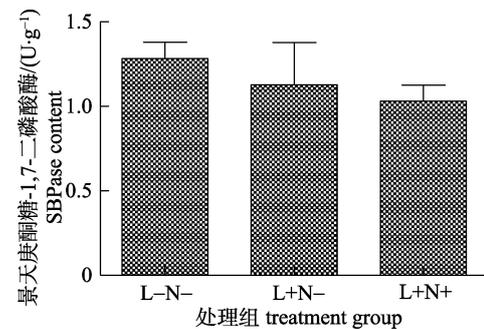


图 8 不同处理对龙须菜天庚酮糖-1, 7-二磷酸酶表达量的影响

Fig. 8 Effects of different treatments on the SBPase quantity of *Gracilaria lemaneiformis*

素。光氮协同作用影响海藻的物质生产、分配和碳氮代谢, 不仅关系到海藻产量的高低和品质的优劣, 也关系到逆境条件下海藻的代谢变化^[8]。其中, 可溶性蛋白和可溶性糖均能在一定程度上反

映藻体的物质积累^[9-10]。本研究中, L+N-组相对 L-N-组可溶性蛋白含量下降 22.55%, 而可溶性糖含量上升 13.67%。说明高光照对龙须菜形成了胁迫作用, 含氮物质合成减少, 而糖类物质合成增加(图 1, 图 3)。L+N+组相对 L+N-组可溶性蛋白上调 87.44%, 相对于 L-N-组上调 44.62%, 而 L+N+组相对 L+N-组可溶性水平下降了 16.3%, (图 1, 图 3)。说明高光条件下增加氮源可缓解高光带来的胁迫效应, 使藻体的氮同化能力增强, 此时越来越多的光合三碳化合物流向氮素代谢, 导致可溶性糖含量下降。徐永健等^[11]也发现在一定的光照条件下低氮处理有助于琼胶的积累而高氮处理不利于琼胶的积累, 这和本研究中可溶性糖含量的变化相一致。此外, 可溶性蛋白含量的提高标志着龙须菜抗逆性的增加, 可溶性蛋白有着很强的亲水性, 可显著增强细胞的保水力, 对作物起着有效的保护作用^[12]。从图 2 可以看到龙须菜在 L-N-、L+N-、L+N+的培养条件下的含水率分别为 82.83%、79.06%、81.94%, 各组之间的变化不大, 其含水率基本保持在 80%左右, 这就给龙须菜提供了一个相对稳定的代谢环境。

光照为光合作用提供同化力形成所需要的能量, 当光强不足时, 光合碳同化过程会由于同化力短缺则受到限制, 或者由于光合作用的关键酶没有充分活化而受到抑制; 另一方面, 光能过剩则可能引发光抑制, 甚至导致光合机构遭到破坏。研究者发现高光会破坏光合系统 II(PSII)并抑制其光合作用, 但当环境中充足的氮源时, 藻体可以通过合成蛋白和色素的方式参与 PSII 的修复从而减轻高光照对藻体产生的副作用^[13-14]。高等植物中的主要光合色素是叶绿素 a 和叶绿素 b, 而红藻、蓝藻和部分隐藻的光合色素则是藻胆蛋白和叶绿素 a, 多种藻胆蛋白(龙须菜中以藻红蛋白为主)共同组成棒状的藻胆体附着在类囊体膜的外表面上构成藻类的捕光系统, 光能由位于藻胆体顶端的藻红蛋白捕获, 传递方向为藻红蛋白→藻蓝蛋白→别藻蓝蛋白→叶绿素 a^[15-16], 在红藻中叶绿素 a 仅有不到 20%结合到 PSII, 而其他的都结合到 PSI(光合系统 I), 所以藻红蛋白和叶绿素 a 的含量和藻体的光合效率以及藻体的光修复

息息相关。L+N-组的藻红蛋白含量在受到高光之后呈持续下降的趋势, 而 L+N+组由于补充了氮源, 龙须菜的藻红蛋白反而得到一定程度的积累(图 4)。从龙须菜的颜色变化也可直观的看出龙须菜藻红蛋白含量的变化情况, L+N-组的藻体颜色相对 L-N-紫红色会慢慢消失, 随之慢慢变为枯黄色, 而 L+N+相对 L-N-颜色会更深红, 这就是藻体对藻红蛋白的储备过程^[17]。高光照使得藻红蛋白和叶绿素 a 两种光合色素含量下降, 这必将影响到龙须菜的光合效率以及光合系统的修复过程, 使得龙须菜在低氮条件下承受不了高光照的辐射而导致其产量和质量的下降; 在氮源比较充足的条件下藻红蛋白和叶绿素 a 两种光合色素的含量得到补给, 且藻红蛋白作为一种储藏性蛋白在龙须菜中得到积累, 这就使得龙须菜在高光照条件下 PSII 系统损伤和修复仍能保持平衡, 保证了龙须菜不受光抑制。

3.2 不同氮浓度和光照强度对龙须菜碳氮代谢关键酶的影响

谷氨酰胺合成酶(GS)是植物氮代谢的关键酶, GS 能将无机 NH_4^+ 转化为有机的谷氨酰胺从而使环境中的氮进入到植物体的整个氮代谢中。L+N+组相对于 L-N-和 L+N-组 GS 表达量下降约 18% (图 6), 有研究人员发现 GS 的酶活在高氮条件下表现为上调^[18], 这可能是由于环境中 GS 的底物 NH_4^+ 充足, 能够诱导 GS 不断地催化合成谷氨酰胺(Gln), 这可能也反映了底物对 GS 的调控发生在翻译后水平, 而产物对 GS 的调控发生在翻译前水平; L+N-组 GS 表达量相对 L-N-组并没有表现出明显的上调或下调, 虽然有报道称 GS 的表达调控受光照的影响, 但结果表明此光照范围并未对龙须菜 GS 的表达造成影响。

卡尔文循环(calvin cycle)又称 C3 途径, 是碳固定的基本途径, 其反应构成由 RuBP (1, 5-二磷酸核酮糖)开始, RuBP 再生结束。Rubisco 催化卡尔文循环的第一步反应即催化 CO_2 和 RuBP 变成两分子的 3-磷酸甘油酸(PGA); SBPase(景天庚酮糖-1, 7-二磷酸酶)则处在 RuBP 再生平衡点的位置, 控制着卡尔文循环过程中碳的流量。从图 7 可以看到, 不同处理条件下 Rubisco 的表达量并

没有表现出差异性,而 L+N+组可溶性蛋白的增加(图 1) (藻体氮代谢对碳骨架的需求增加)以及 L+N-组的可溶性糖增加(图 3),说明龙须菜的碳代谢在高光照条件下是增强的,但 Rubisco 的表观量并没有表现出差异性,这可能是因为 Rubisco 的活性受 Rubisco 活化酶(RCA)的调节,其活化过程中需要 ATP,因为 ATP 来自于光反应,所以光是 Rubisco 的间接激活剂^[19],也就是说高光照通过提供更多的 ATP 使得 RCA 激活 Rubisco 的活性,说明光照对 Rubisco 的调控也是翻译后水平上的。SBPase 处在 RuBP 再生平衡点的位置, L+N+组相对 L-N-和 L+N-组 SBPase 有明显的下降($P<0.05$) (图 8),反映了光合作用所产生的三碳化合物在氮源充足的条件下主要流向了氮循环。

南澳的龙须菜一般在夹苗之后放在水池,经砂虑的海水处理过夜,可一定程度去除杂藻。养殖户可以考虑向砂滤过的水中添加氮源,使龙须菜在下苗之前储存足够的氮源,这样有利于龙须菜响应环境中的低氮或高光照的胁迫。夏季来临藻体遭遇高光时也可不定期向养殖区投放氮源,犹如给农田作物施肥一般。

参考文献:

- [1] Guo C, Chen W Z, Cao H B, et al. Comparison of physiological response of different strains of *Gracilaria lemaneiformis* to high temperature stress[J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(3): 14-19. [郭翠, 陈伟洲, 曹会彬, 等. 不同龙须菜品系在高温胁迫下的生理响应比较[J]. 南方水产科学, 2011, 7(3): 14-19.]
- [2] Lin Z X, Gong X Z, Li D P. Effects of light and the stress of nutrients deficiency on the growth and levels of chemical constituents of *Gracilaria lemaneiformis*[J]. Marine Sciences, 2007, 31(11): 22-26. [林贞贤, 宫相忠, 李大鹏. 光照和营养盐胁迫对龙须菜生长及生化组成的影响[J]. 海洋科学, 2007, 31(11): 22-26.]
- [3] Lopes P F, Oliveira M C, Colepicolo P. Diurnal fluctuation of nitrate reductase activity in the marine red alga *Gracilaria tenuistipitata*(Rhodophyta)[J]. J Phycol, 1997, 33(2): 225-231.
- [4] Xu Z G, Zou D H, Gao K S, et al. Effects of temperature, irradiance level and nitrate concentration on the uptake of inorganic phosphorus in *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(7): 1023-1029. [徐智广, 邹定辉, 高坤山, 等. 不同温度、光照强度和硝氮浓度下龙须菜对无机磷吸收的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(7): 1023-1029.]
- [5] Zhang Z L, Qu W J. Plant Physiology Experiment Instruction[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003. [张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.]
- [6] Sampath wiley P, Neefus C D. An improved method for estimating R-phycoerythrin and R-phycoyanin contents from crude aqueous extracts of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. J Appl Phycol, 2007, 19(2): 123-129.
- [7] Robinson S A, Slade A P, Fox G G, et al. The role of glutamate dehydrogenase in plant nitrogen metabolism[J]. Plant Physiol, 1991, 95(2): 509-516.
- [8] Yuan Y, Wu F Z, Zhou X G. The interactive effects of light condition and nitrogen supply on yield and quality of tomato(*Lycopersicon esculentum* Mill)[J]. China Vegetables, 2008, 1(8): 11-14. [袁野, 吴凤芝, 周新刚. 光氮及其互作对番茄产量及品质的影响[J]. 中国蔬菜, 2008, 1(8): 11-14.]
- [9] Xu Y. Effects of elevated atmospheric CO₂ concentration and temperature on soluble protein content and allocation of *Betula albo-sinensis* seedlings[D]. Chengdu: Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, 2007. [徐燕. CO₂ 浓度和温度升高对红桦可溶性蛋白含量和分配的影响[D]. 成都: 中国科学院研究生院(成都生物研究所), 2007.]
- [10] Wang F, Liu P, Zhu J W. Effect of Magnesium (Mg) on contents of free proline, soluble sugar and protein in soybean leaves[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2004(6): 35-38. [王芳, 刘鹏, 朱靖文. 镁对大豆游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响[J]. 河南农业科学, 2004(6): 35-38.]
- [11] Xu Y J, Lu K H, Guan B J. Effects of concentrations and ratios of nitrogen and phosphorus on the growth and agar content of *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta)[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(8): 209-213. [徐永健, 陆开宏, 管保军. 不同氮磷浓度及氮磷比对龙须菜生长和琼胶含量的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 209-213.]
- [12] Hong J M, Qiu Z S. The physiological resistance of plants (2) [J]. Bulletin of Biology, 1997(6): 6-8. [洪剑明, 邱泽生. 植物的抗性生理(二)[J]. 生物学通报, 1997(6): 6-8.]
- [13] Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, et al. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress[J]. Biochim et Biophys Acta, 2007, 1767(6): 414-421.
- [14] Huovinen P, Matos J, Pinto I S, et al. The role of ammonium in photoprotection against high irradiance in the red alga

- Grateloupia lanceola*[J]. *Aquat Bot*, 2006, 84(4): 308–316.
- [15] Zhang X C. *Seaweed Genetics*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005. [张学成. 海藻遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.]
- [16] Sui Z H. Studies on the phycoerythrin genes of *Gracilaria lemaneiformis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2001. [隋正红. 龙须菜藻红蛋白基因的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2001.]
- [17] Friedlander M, Krom M D, Ben-Amotz A. The effect of light and ammonium on growth, epiphytes and chemical constituents of *gracilaria conferta* in outdoor cultures[J]. *Bot Mar*, 1991, 34(3): 161–166.
- [18] Zhang Y. The effects of nitrogen and boron on physiological metabolism in *Gracilaria lemaneiformis*[D]. Shantou: Shantou University, 2014. [张莹. 营养元素氮和硼对龙须菜生理代谢的影响[D]. 汕头: 汕头大学, 2014.]
- [19] Jin S H, Weng X Y, Wang N Y, et al. Construction of expression vector with antisense rubisco activase gene and its genetic transformation in rice[J]. *Hereditas*, 2004, 26(6): 881–886. [金松恒, 翁晓燕, 王妮妍, 等. Rubisco 活化酶基因反义表达载体的构建与水稻的遗传转化[J]. *遗传*, 2004, 26(6): 881–886.]

The effects of light intensity and nitrogen on the physiology of the red macroalgae *Gracilaria lemaneiformis*

ZHANG Qingfang, FENG Yingqi, WEN Jinyan, ZHONG Mingqi, DU Hong

Department of Biology, Shantou University, Shantou 515063, China

Abstract: *Gracilaria lemaneiformis*, which has rich agar, comprises the third-largest seaweed cultivation industry group in China, after *Laminaria* and *Laver*. As light intensity gradually strengthens in summer, *G. lemaneiformis* in the surface layer of cultivation areas becomes green, or even white, yet the internal part remains dark red. *G. lemaneiformis* was cultured in artificial seawater with inorganic nitrogen ($\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+ = 2 : 1$). Three conditions: low light low nitrogen (L–N–), high light low nitrogen (L+N–) and high light high nitrogen (L+N+) were settled in this study. The impact of light intensity and nitrogen on physiology and metabolism of *G. lemaneiformis* was studied through measured matter accumulation, photosynthetic pigment, key enzyme during carbon and nitrogen metabolism under three conditions. The results showed that, compared with the L–N– group, the L+N– group showed decrease of soluble protein, water, phycoerythrin and chlorophyll-a, but the amount of soluble sugar increased 13.67%. Compared with the L+N– group, the L+N+ group showed the increase of soluble protein, water, phycoerythrin and chlorophyll-a, but the amount of soluble sugar decreased 16.3%. Compared with the L+N+ group, the L–N– group showed the increase of soluble protein, phycoerythrin, but there is no significant difference in its amount of water content, chlorophyll-a and soluble sugar. These results confirm that a sufficient amount of nitrogen can weaken the negative effects of high-intensity light on a red macroalgae.

Key words: *Gracilaria lemaneiformis*; light intensity; nitrogen supplementation; physiological index

Corresponding author: DU Hong. E-mail: hdu@stu.edu.cn