

文章编号: 1000-0615(2019)03-0650-11

DOI: 10.11964/jfc.20180411221

光强、温度和N/P比对坛紫菜叶状体单性生殖发生的影响

付阳阳^{1,2,3}, 丁洪昌^{1,2,3}, 林琪⁴, 钟晨辉^{1,2,3,4},
刘长军⁵, 严兴洪^{1,2,3*}

(1. 上海海洋大学水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;

2. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

3. 上海海洋大学, 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;

4. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361013;

5. 象山县水产技术推广站, 浙江 象山 315700)

摘要: 为探究培养条件对坛紫菜叶状体生长和单性生殖发生的影响, 研究了不同光强、温度和N/P比下坛紫菜叶状体的生长及单性生殖发生的特点。结果显示, 当光强为10~40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 藻体生长缓慢、成熟晚、单性生殖发生晚; 光强增至60~80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 藻体生长加快, 成熟和单性生殖发生同时提前。温度为17~20 $^{\circ}\text{C}$ 时, 藻体生长慢、成熟晚、单性生殖发生推迟; 23 $^{\circ}\text{C}$ 时藻体生长最快; 而29 $^{\circ}\text{C}$ 组的藻体虽然生长受到抑制, 但藻体成熟和单性生殖发生得到促进。N/P比为16:1处理组的叶状体比其他处理组(1:1、4:1、32:1和64:1)均生长变快, N/P比为64:1时叶状体生长最慢, 但易成熟、易发生单性生殖。因此, 在高光强、高温和高N/P比下, 藻体成熟和单性生殖发生均提早, 说明这些因素对坛紫菜叶状体单性生殖的发生有重要影响。

关键词: 坛紫菜; 光强; 温度; N/P; 叶状体; 单性生殖

中图分类号: S 917.3

文献标志码: A

紫菜(*Pyropia* sp.)在系统分类学上隶属于红藻门(Rhodophyta)、原红藻纲(Protofloridae)、红毛菜目(Bangiales)、红毛菜科(Bangiaceae), 广泛分布于寒带至亚热带的潮间带, 是一种具有重要经济价值的红藻^[1]。目前, 在我国被大规模栽培的紫菜有坛紫菜(*P. haitanensis*)和条斑紫菜(*P. yezoensis*), 其中坛紫菜为我国的特有种, 广泛栽培于浙江、福建和广东沿海, 其年产量占我国紫菜年总产量的75%^[2]。

坛紫菜的生活史由微型的丝状孢子体(2n)和大型的叶状配子体(n)两个异型世代组成。叶状体成熟后通过有性生殖产生果孢子, 果孢子遇到贝壳等适宜的基质附着并钻入贝壳内, 萌发

成丝状体, 后者成熟后放散出壳孢子并萌发成叶状体, 由于壳孢子的最初2次细胞分裂为减数分裂, 所形成的叶状体为基因型嵌合且雌雄同体。在实验室条件下, 通过体细胞分离及培养可获得纯合的单性叶状配子体, 当分别单独培养时, 雌、雄叶状体又可通过单性生殖产生纯合丝状体, 其后代均为单性且可育的叶状体^[3]。

单性生殖是指雌雄生殖细胞, 不经过两性相互结合而由雌配子或雄配子单独发育成新个体的生殖方式, 可分为孤雌和孤雄生殖, 一般孤雄生殖发生率极低, 报道也较少^[4]。单性生殖在遗传育种上具备快速获得遗传纯系、固定杂交重组优势、培育新种质、扩大遗传资源等一

收稿日期: 2018-04-01 修回日期: 2018-04-25

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2018YFD0900606); 国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A411); 国家自然科学基金(31072208); 江苏省科技计划项目(BE2018335); 浙江省农业(水产)新品种选育重大科技专项(2016C02055-6); 福建省种业创新与产业化工程专项(2014S1477-10)

通信作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

系列优势^[5]。近十多年来,学者们利用坛紫菜单性生殖特性,建立了高效的紫菜单性育种技术,通过该技术,选育出我国第一批紫菜新品种坛紫菜“申福1号”以及坛紫菜“申福2号”^[6]等。目前为止,对坛紫菜单性生殖的研究仅局限于表观观察,对其发生机理尚未见报道。本研究以坛紫菜选育品系(HR-5)为材料,探究光强、温度和N/P比对坛紫菜单性生殖发生的影响,以期深入研究坛紫菜单性生殖行为奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的HR-5品系是通过杂交获得的选用品系^[7],该品系以自由丝状体的形式被保存于实验室内。壳孢子采苗与叶状体培养的方法参考相关研究^[8],培养液为添加MES培养基的灭菌海水^[9]。

1.2 光强、温度和N/P比对坛紫菜叶状体生长的影响

不同光强对HR-5品系叶状体生长的影响
HR-5品系叶状体培养至30 d时,随机选取长约2 cm的藻体45株,分为5组,分别置于含有MES培养液(500 mL)的充气瓶中充气培养,其光照强度分别为10、20、40、60、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,其他培养条件:温度23 $^{\circ}\text{C}$,光照周期10L:14D,每5天测量1次叶状体的长度,并更换1/2的培养液。每组实验设置3个平行。

不同温度对HR-5品系叶状体生长的影响
材料同“不同光强对HR-5品系叶状体生长的影响”,培养温度分别为17、20、23、26和29 $^{\circ}\text{C}$,其他培养条件:光照强度40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光照周期10L:14D,每5天测量1次叶状体的长度,并更换1/2的培养液。每组实验设置3个平行。

不同N/P比对HR-5品系叶状体生长的影响
材料同“不同光强对HR-5品系叶状体生长的影响”。N源和P源分别为硝酸钠和甘油磷酸钠,在自然海水中添加N源和P源,设置P浓度为0.4 $\mu\text{mol}/\text{L}$,N浓度按比例添加,最终配置的培养液N/P比分别为1:1、4:1、16:1、32:1和64:1,使用前需经高压灭菌。其他培养条件:温度23 $^{\circ}\text{C}$,光照强度40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光照周期10L:14D,每5天测量1次叶状体的长度,并更换1/2的培养

液。每组实验设置3个平行。

1.3 光强、温度和N/P比对坛紫菜单性生殖发生的影响

不同光强对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响
HR-5品系叶状体培养至40 d时,用打孔器($\Phi=2.5$ mm)在藻体稍部取30个圆盘体,分成5组,每组6个,分别置于含有MES培养液(200 mL)的塑料杯中充气培养,培养条件同“不同光强对HR-5品系叶状体生长的影响”,每4天拍摄1次圆盘体的直观照片和显微照片,记录圆盘体的生长情况,并更换1/2的培养液。每组实验设置3个平行。

不同温度对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响
材料同“不同光强对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响”,培养条件同“不同温度对HR-5品系叶状体生长的影响”。每4天拍摄1次圆盘体的直观照片和显微照片,记录圆盘体的生长情况,并更换1/2的培养液。每组实验设置3个平行。

不同N/P比对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响
材料同“不同光强对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响”,培养条件同“不同N/P比对HR-5品系叶状体生长的影响”。每4天拍摄1次圆盘体的直观照片和显微照片,记录圆盘体的生长情况,并更换1/2的培养液。每组实验设置3个平行。

1.4 数据处理

采用Excel 2010软件对实验数据进行处理,统计值用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)描述;用SPSS 18.0的独立样本t-test检验组间的差异,统计结果 $P<0.05$ 时认为存在显著差异, $P<0.01$ 时认为存在极显著差异。

2 结果

2.1 光强、温度和N/P比对坛紫菜叶状体生长的影响

不同光强对HR-5品系叶状体生长的影响
在整个培养期间,高光强组[60、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]的叶状体生长速率明显比低光强组[10、20、40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]快。其中80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 组的叶状体生长最快,10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 组的叶状体生长最慢(图1)。

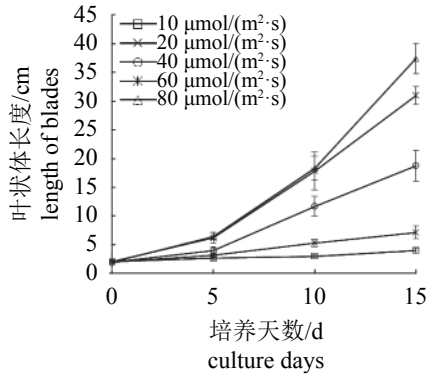


图1 坛紫菜HR-5品系叶状体(日龄30 d)在不同光强下培养15 d的平均长度

Fig. 1 Mean length of the 30-day-old gametophytic blades of the HR-5 strain of *P. haitanensis* cultured at different light intensity for another 15 days

不同温度对HR-5品系叶状体生长的影响在整个培养期间，23 °C组的叶状体生长优势很明显(图2)。低温(17、20 °C)和高温(26、29 °C)均会减缓叶状体生长速率，其中29 °C组的叶状体生长速率最慢。

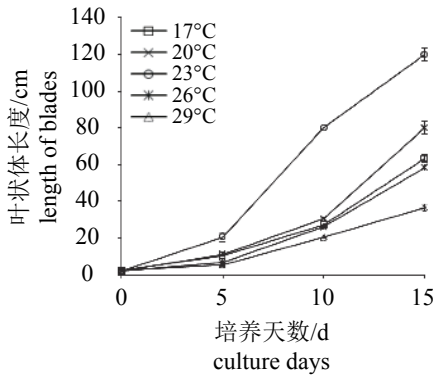


图2 坛紫菜HR-5品系叶状体(日龄30 d)在不同温度下培养15 d的平均长度

Fig. 2 Mean length of the 30-day-old gametophytic blades of the HR-5 strain of *P. haitanensis* cultured at different temperature for another 15 days

不同N/P比对HR-5品系叶状体生长的影响随着培养天数的增加，各N/P组的叶状体长度均增长(图3)。其中16 : 1组的叶状体生长最快，但与32 : 1组差异不大。另外3组(1 : 1、4 : 1和64 : 1)的叶状体生长相对较慢，64 : 1组最慢。

2.2 光强、温度和N/P比对坛紫菜叶状体单性生殖发生的影响

不同光照对HR-5品系叶状体单性生殖发

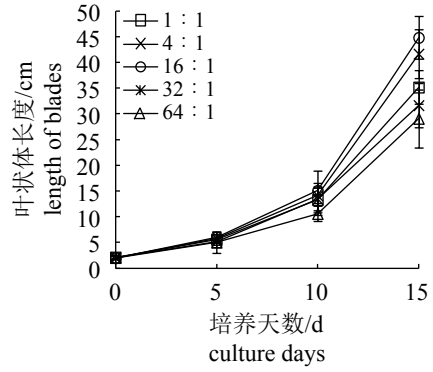


图3 坛紫菜HR-5品系叶状体(日龄30 d)在不同营养条件(N/P比)下培养15 d的平均长度

Fig. 3 Mean length of the 30-day-old gametophytic blades of the HR-5 strain of *P. haitanensis* cultured at different nutritional condition (N/P) for another 15 days

生的影响 在培养前期，各光强组的藻体圆盘体细胞差异较小，均呈现红褐色，具明显的星状色素体(图版 I -1~15)。培养至12 d，60和80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组的圆盘体细胞间隙增大，星状色素体缩小，颜色变浅变绿，逐渐形成雌性生殖细胞——果胞，其中80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组的变化程度更大(图版 I -19~20)，而其他组的细胞形态没有明显变化(图版 I -16~18)；统计得出，60和80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组中有果胞形成的圆盘体占总圆盘体的比例分别为11.1%和38.9%(表1)。至16 d，60和80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组已有果胞从圆盘体边缘游离出来，留下清晰可见的细胞骨架(图版 I -24~25)，游离出来的果胞发育成单性孢子，随后，单性孢子长出萌发管形成丝状体。统计得出，60和80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组中有丝状体形成的圆盘体占总圆盘体的比例分别为27.8%和38.9%(表1)。此时，40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组中44.4%的圆盘体边缘游离出果胞并形成单性孢子，但未见有丝状体形成；20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组中仅有16.7%的圆盘体刚开始形成果胞；10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组中的圆盘体未见有果胞形成。至20 d，60和80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组的圆盘体已全部成熟，果胞、单性孢子和丝状体等在圆盘体上同时存在(图版 I -29~30)。其他组中，随着光强增加，出现单性孢子和丝状体的圆盘体比例也增加。

不同温度对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响 随着培养天数的增加，不同温度组的圆盘体细胞也逐渐向果胞、单性孢子和丝状体的方向分化，但不同温度下其分化速率不同(图版 II)。高温组(26和29 °C)的圆盘体细胞分

表 1 不同光强下坛紫菜HR-5品系叶状体圆盘体单性生殖发生的时空顺序

Tab. 1 Spatial-temporal order of parthenogenesis occurrence of gametophytic blades discs of the HR-5 strain of *P. haitanensis* cultured at different light intensity

光强/[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] light intensity	培养天数/d culture days					
	0	4	8	12	16	20
10	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(83.3) RC(16.7)
20	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(83.3) RC(16.7)	VC(16.7) RC(27.8) CC(16.7) CG(38.9)
40	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(16.7) RC(38.9) CC(44.4)	VC(5.6) RC(16.7) CC(27.8) CG(50.0)
60	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(88.9) RC(11.1)	VC(16.7) RC(33.3) CC(22.2) CG(27.8)	RC(16.7) CC(22.2) CG(61.1)
80	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(61.1) RC(38.9)	VC(11.1) RC(22.2) CC(27.8) CG(38.9)	RC(16.7) CC(16.7) CG(66.7)

注: VC表示处于营养生长期的圆盘体, RC表示出现果胞的圆盘体, CC表示出现单性孢子的圆盘体, CG表示出现丝状体的圆盘体; 括号中数值表示出现以上类型的圆盘体占总圆盘体的百分数; 下同

Notes: VC represents the discs in vegetative period, RC represents the discs showing carpogonium cells, CC represents the discs showing carpospore-like cells, CG represent the discs showing conchocelis; the values of the bracket represent the percentage of the discs of the above type in total discs; the same below

化速率相对较快, 培养至16 d时, 已有果胞从圆盘体边缘游离出来, 发育成单性孢子和丝状体, 统计得出, 它们中有丝状体形成的圆盘体占总圆盘体的比例分别为50.0%和61.1%(表2)。此时, 23 °C组中55.6%的圆盘体边缘游离出果胞

并形成单性孢子, 但未见有丝状体的形成; 20 °C组中仅有16.7%的圆盘体刚开始形成果胞; 17 °C组中的圆盘体未见有果胞形成。至20 d时, 各温度组圆盘体细胞均进一步分化, 但分化速率为29 °C>26 °C>23 °C>20 °C>17 °C。

表 2 不同温度下坛紫菜HR-5品系叶状体圆盘体单性生殖发生的时空顺序

Tab. 2 Spatial-temporal order of parthenogenesis occurrence of gametophytic blades discs of the HR-5 strain of *P. haitanensis* cultured at different temperature

温度/°C temperature	培养天数/d culture days					
	0	4	8	12	16	20
17	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(83.3) RC(16.7)
20	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(55.6) RC(44.4)	VC(16.7) RC(27.8) CC(16.7) CG(38.9)
23	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(16.7) RC(27.8) CC(55.6)	VC(5.6) RC(11.1) CC(27.7) CG(55.6)
26	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(88.9) RC(11.1)	VC(11.1) RC(16.7) CC(22.2) CG(50.0)	RC(5.6) CC(27.7) CG(66.7)
29	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(61.1) RC(38.9)	VC(5.6) RC(11.1) CC(22.2) CG(61.1)	RC(5.6) CC(11.1) CG(83.3)

不同N/P比对HR-5品系叶状体单性生殖发生的影响 随着培养天数的增加,不同营养(N/P比)组的圆盘体细胞也逐渐向果胞、单性孢子和丝状体的方向分化,但它们的分化速率均相对较慢(图版 III)。培养至16 d时,1:1和64:1组才有少量圆盘体出现果胞,占总圆盘体的比例分别为11.1%和16.7%,而其他组圆盘体均

未出现果胞(表3)。至第24天时,1:1、4:1、32:1和64:1组中有丝状体形成的圆盘体占总圆盘体的比例分别为16.7%、16.7%、33.3%和38.9%,而16:1组分化速率较慢,仅有一半的圆盘体的体细胞形成果胞。但至28 d时,16:1组中也有33.3%的圆盘体的体细胞分化形成了丝状体。

表3 不同N/P比下坛紫菜HR-5品系叶状体圆盘体单性生殖发生的时空顺序

Tab. 3 Spatial-temporal order of parthenogenesis occurrence of gametophytic blades discs of the HR-5 strain of *P. haitanensis* cultured at different N/P

N/P	培养天数/d culture days					
	0	8	16	20	24	28
1:1	VC(100)	VC(100)	VC(88.9) RC(11.1)	VC(55.6) RC(44.4)	VC(22.2) RC(27.8) CC(33.3) CG(16.7)	VC(5.6) RC(11.1) CC(33.3) CG(50.0)
4:1	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(83.3) RC(16.7)	VC(16.7) RC(27.8) CC(50.0) CG(16.7)	VC(50.0) CG(50.0)
16:1	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(94.4) RC(5.6)	VC(44.4) RC(55.6)	RC(33.3) CC(33.3) CG(33.3)
32:1	VC(100)	VC(100)	VC(100)	VC(77.8) RC(22.2)	VC(16.7) RC(22.2) CC(27.8) CG(33.3)	CC(16.7) CG(83.3)
64:1	VC(100)	VC(100)	VC(83.3) RC(16.7)	VC(16.7) RC(83.3)	VC(11.1) RC(22.2) CC(27.8) CG(38.9)	CC(33.3) CG(66.7)

3 讨论

3.1 光强对坛紫菜叶状体生长和单性生殖发生的影响

在一定时间范围内,光强越强,植物生长越快,但过高的光强会对其造成胁迫,进而影响植物体正常生长^[10]。紫菜是高光饱和点植物^[11],本实验设置的光照梯度均在其光饱和点以下,在10~80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 范围内,光强越强,坛紫菜HR-5品系叶状体的生长速率越快。同时,光也作为一种环境信号,参与植物体生长发育^[12]的调控。低光强下,海带(*Laminaria japonica*)雌雄配子体细胞只能进行营养生长,增加细胞体积或数目,无法形成精囊和卵囊向孢子体世代发展^[13]。本研究发现,随着光强的增加,坛紫菜HR-5品系叶状体的成熟期也提前,释放出的果胞形成单性生殖孢子,进而发育成丝状体,完成单性生殖过程。这说明光强是调控坛紫菜单

性生殖发生的一个重要因素。

3.2 温度对坛紫菜叶状体生长和单性生殖发生的影响

温度对藻类光合系统中的关键性酶有重要影响,过高或过低都会降低藻体的光合作用能力以及自我保护能力,导致藻体生长缓慢^[14]。另外,温度也是影响藻类繁殖发生的重要因素之一。张晓红等^[15]研究发现,高温下浒苔(*Enteromorpha prolifera*)营养生长加快,较早进入生殖期,低温下浒苔能长时间保持营养生长。Bartsh等^[16]报道了掌状海带(*Laminaria digitata*)的孢子囊在不同温度(10~22 °C)下孢子的放散量和萌发率,发现较高温度能促进其孢子囊产生。本实验中,坛紫菜HR-5品系叶状体的最适生长温度为23 °C,高温(26和29 °C)或低温(17和20 °C)均会减缓其藻体的生长。但高温可促使其藻体提前成熟,单性生殖提前发生。

3.3 N/P比对坛紫菜叶状体生长和单性生殖发生的影响

营养盐是海洋浮游植物生长繁殖的基础, 在一般情况下, 海洋的浮游植物对N、P营养盐的吸收比率符合Redfield比值^[17], 即N/P=16:1, 不同营养盐水平及营养盐之间的百分比对浮游植物的生长和生化组成结构有着明显的作用^[18]。N和P都是藻类生长的重要营养因子, N是藻类细胞中构成蛋白质的主要成分, 占藻类蛋白质含量的16%~18%, 对藻类的生长、发育、成熟至关重要; P是藻类细胞的细胞质、细胞膜和细胞核组成成分, 并参与光合作用和呼吸作用, 也是糖类、脂肪及氮代谢过程中不可缺少的元素, 所以适宜的营养盐可以控制藻类的生长、生物量以及种群结构^[19]。在本研究中, 相比N/P比为16:1, 当N/P比为1:1和64:1时, 坛紫菜HR-5品系叶状体生长缓慢, 但其成熟和单性生殖发生均提早。因此, N缺乏或富N均可促进坛紫菜叶状体的成熟及单性生殖, 为探究其单性生殖机理提供科学的依据。

参考文献:

- [1] Yoshida T, Notoya M, Kikuchi N, *et al.* Catalogue of species of *Porphyra* in the world, with special reference to the type locality and bibliography[J]. Natural History Research Special Issue, 1997, 3: 5-18.
- [2] 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: 184-186.
Zhang X C, Qin S, Ma J H, *et al.* Genetics of Marine Algae[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005: 184-186(in Chinese).
- [3] 朱建一, 严兴洪, 丁兰平, 等. 中国紫菜原色图集[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 143-144.
Zhu J Y, Yan X H, Ding L P, *et al.* Color Atlas of Chinese Laver[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 143-144(in Chinese).
- [4] Nakahara H, Nakamura Y. Parthenogenesis, apogamy and apospory in *Alaria crassifolia* (Laminariales)[J]. Marine Biology, 1973, 18(4): 327-332.
- [5] Czapik R. Apomixis in monocotyledons[M]//Jacobs S W L, Everett J. Grasses, Systematics and Evolution. Melbourne: CSIRO, 2000: 316-321.
- [6] 黄林彬, 严兴洪. 坛紫菜“申福1号”和“申福2号”的中试研究[C]//2011年全国海水养殖学术研讨会论文集. 上海: 中国水产学会, 2011.
- Huang L B, Yan X H. The pilot cultivation of “Shenfu No. 1” and “Shenfu No. 2” of *Porphyra haitanensis* in mariculture farm[C]//National Symposium on Marine Aquaculture. Shanghai: China Society of Fisheries, 2011(in Chinese).
- [7] Ding H C, Lv F, Wu H X, *et al.* Selection and characterization of an improved strain produced by interspecies hybridization between *Pyropia* sp. from India and *Pyropia haitanensis* from China[J]. Aquaculture, 2018, 491C: 177-183.
- [8] 梁志强. 坛紫菜遗传育种的初步研究[D]. 上海: 上海水产大学, 2004: 10-22.
Liang Z Q. Primary study on genetics and breeding of *Porphyra haitanensis*[D]. Shanghai: Shanghai Fisheries University, 2004: 10-22(in Chinese).
- [9] 王素娟, 张小平, 徐志东, 等. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究I[J]. 海洋与湖沼, 1986, 17(3): 217-221.
Wang S J, Zhang X P, Xu Z D, *et al.* A study on the cultivation of the vegetative cells and protoplasts of *P. haitanensis* I[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1986, 17(3): 217-221(in Chinese).
- [10] 殷秀敏. 酸雨、UV-B和光强胁迫对5种常绿阔叶树幼苗叶绿素荧光和生长特性的比较研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2010.
Yin X M. The comparing research on chlorophyll II fluorescence characteristics and growth of five evergreen broad-leaved seedlings under the stress of acid rain, UV-B and light stress[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2010(in Chinese).
- [11] 何培民, 张政值, 张荣铨. 条斑紫菜的光合作用及其主要影响因素[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(4): 19-22.
He P M, Zhang Z Z, Zhang R X. Photosynthesis and its primal effect factors in *Porphyra*[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 1999, 22(4): 19-22(in Chinese).
- [12] 熊福生, 高煜珠, 詹勇昌, 等. 植物叶片蔗糖、淀粉积累与其降解酶活性关系研究[J]. 作物学报, 1994, 20(1): 52-58.
Xiong F S, Gao Y Z, Zhan Y C, *et al.* Relationship between leaf sucrose and starch content and their degradative enzymes activities in crop plants[J]. Acta

- Agronomica Sinica*, 1994, 20(1): 52-58(in Chinese).
- [13] 李霞. 中国北方主流海带品系的SSR遗传多样性分析及种海带孢子囊成熟和温度的关系研究[D]. 青岛: 中国科学院大学海洋研究所, 2015.
- Li X. Studies on genetic diversity of main cultivars of *Saccharina japonica* by using SSR and temperature effect on sorus development in northern China[J]. Qingdao: The Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2015(in Chinese).
- [14] 姚南瑜. 藻类生理学[M]. 大连: 大连工学院出版社, 1987: 259.
- Yao N Y. Algae physiology[M]. Dalian: Dalian Institute of Technology Press, 1987: 259(in Chinese).
- [15] 张晓红, 王宗灵, 李瑞香, 等. 不同温度、盐度下浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 群体增长和生殖的显微观测[J]. *海洋科学进展*, 2012, 30(2): 276-283.
- Zhang X H, Wang Z L, Li R X, *et al.* Microscopic observation on population growth and reproduction of *Enteromorpha prolifera* under different temperature and salinity[J]. *Advances in Marine Science*, 2012, 30(2): 276-283(in Chinese).
- [16] Bartsch I, Vogt J, Pehlke C, *et al.* Prevailing sea surface temperatures inhibit summer reproduction of the kelp *Laminaria digitata* at Helgoland (North Sea)[J]. *Journal of Phycology*, 2013, 49(6): 1061-1073.
- [17] Redfield A C. The biological control of chemical factors in the environment[J]. *Science Progress*, 1960, 11: 150-170.
- [18] 袁美玲, 王朝晖, 李友富. N、P营养盐对海洋卡盾藻 (*Chattonella marina*) 生长的影响[J]. *生态学报*, 2008, 28(1): 430-435.
- Yuan M L, Wang Z H, Li Y F. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on the growth of *Chattonella marina*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(1): 430-435(in Chinese).
- [19] 张猛, 石瑛, 丁义晶. 不同氮磷比和 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻生长繁殖的影响[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(6): 196-198.
- Zhang M, Shi Y, Ding Y J. The effects of different ratio of nitrogen to phosphorous and Fe^{3+} concentration on growth and reproduction of *Cladophora*[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2013, 41(6): 196-198(in Chinese).

Effects of light intensity, temperature, and N/P ratio on parthenogenesis of *Pyropia haitanensis*

FU Yangyang^{1,2,3}, DING Hongchang^{1,2,3}, LIN Qi⁴, ZHONG Chenhui^{1,2,3,4},
LIU Changjun⁵, YAN Xinghong^{1,2,3*}

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Fujian Fisheries Research Institute, Xiamen 361013, China;

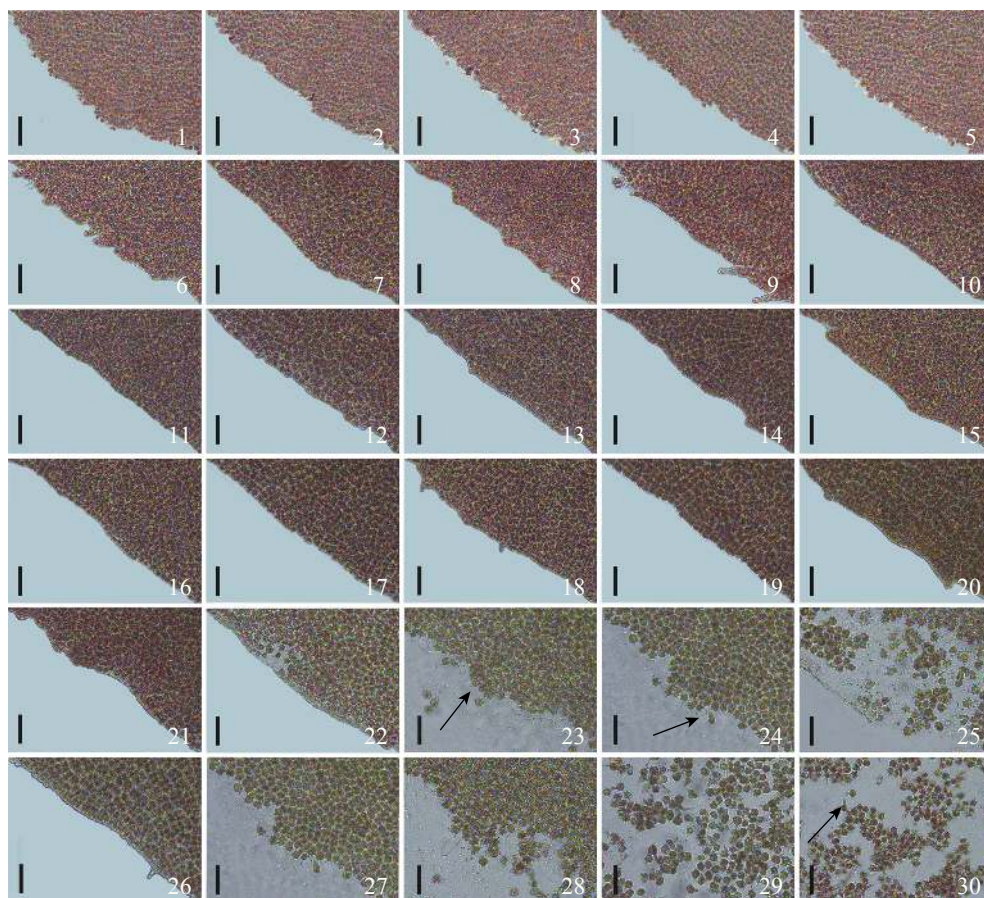
5. Xiangshan Fisheries Technical Extension Center, Xiangshan 315700, China)

Abstract: To explore the influence of the external environment on *Pyropia haitanensis* blades, the effects of different light intensity, temperature, and ratios of nitrogen to phosphorous on the growth and parthenogenesis of thallus were studied through microscopic observation and statistical analysis. When the light intensity is 10-40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, the algae grow slowly, mature late, and parthenogenesis also occurs later; When the light intensity increased to 60-80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, the algae growth accelerated, maturation became early, and parthenogenesis also advanced. When the temperature is 17-20 °C, the algae grow slowly, mature late, and parthenogenesis is postponed; When the temperature rises above 23 °C, the algae growth begins to be inhibited, but the high temperature promotes the maturation of the algae, and parthenogenesis also occurs in advance. The treatment group with a nitrogen to phosphorous ratio of 16 : 1 grew faster than other treatment groups (1 : 1, 4 : 1, 32 : 1 and 64 : 1), the slowest rate of thallus growth was observed in the 64 : 1 ratio of nitrogen to phosphorus, but it is easy to mature and prone to parthenogenesis. Therefore, at the high light intensity, high temperature and high ratio of nitrogen to phosphorus conditions, both the maturation and parthenogenesis of the algae were improved. Culture conditions have important effects on parthenogenesis of *P. haitanensis*.

Key words: *Pyropia haitanensis*; light intensity; temperature; N/P; gametophyte; parthenogenesis

Corresponding author: YAN Xinghong. E-mail: xhyan@shou.edu.cn

Funding projects: National Key Research and Development Program of China(2018YFD0900606); National High Technology Research & Development Program of China (“863”Program) (2012AA10A411); National Natural Science Foundation of China (31072208); Science and Technology Planning Project of Jiangsu Province, China(BE2018335); Major Science and Technology Special Fund of Agriculture (Fisheries) New Variety Breeding of Zhejiang Province, China (2016C02055-6); Seed Industry Innovation and Industrialization Project of Fujian Province (2014S1477-10)

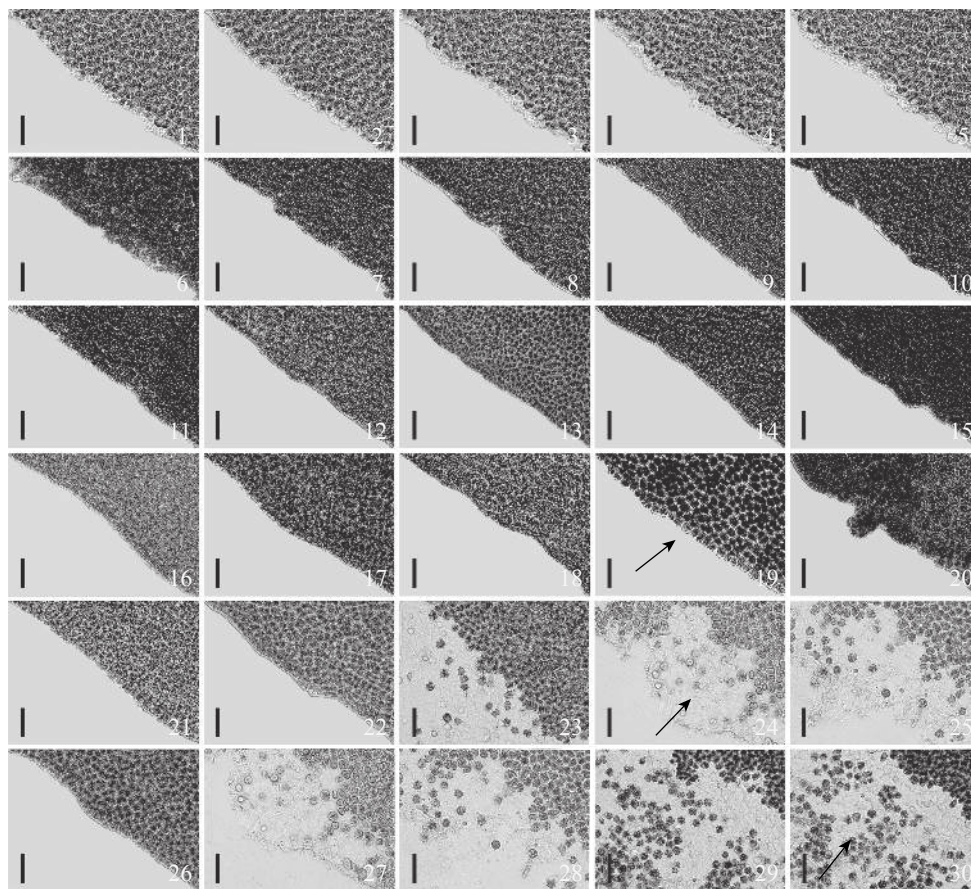


图版 I 日龄40 d的坛紫菜叶状体圆盘体在不同光强下再培养20 d的显微照片

1~5、6~10、11~15、16~20、21~25、26~30分别为再培养0、4、8、12、16、20 d的圆盘体；1、6、11、16、21、26.光强均为 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ；2、7、12、17、22、27.光强均为 $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ；3、8、13、18、23、28.光强均为 $40 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ；4、9、14、19、24、29.光强均为 $60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ；5、10、15、20、25、30.光强均为 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ；图23箭头示果胞，图24箭头示单性孢子，图30箭头示丝状体，下同；图中标尺均代表 $20 \mu\text{m}$

Plate I Micrograph of the discs from 40-day-old gametophytic blades of *P. haitanensis* cultured at different light intensity for another 20 days

1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30. the discs were recultivated for 0, 4, 8, 12, 16, 20 days, respectively; 1, 6, 11, 16, 21, 26. the light intensity was $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 2, 7, 12, 17, 22, 27. the light intensity was $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 3, 8, 13, 18, 23, 28. the light intensity was $40 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 4, 9, 14, 19, 24, 29. the light intensity was $60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 5, 10, 15, 20, 25, 30. the light intensity was $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; the arrow (23) indicates the carpogonia, the arrow (24) indicates the parthenogenetic spores, the arrow (30) indicates the conchocelis, the same below; the bars = $20 \mu\text{m}$ in 1-30

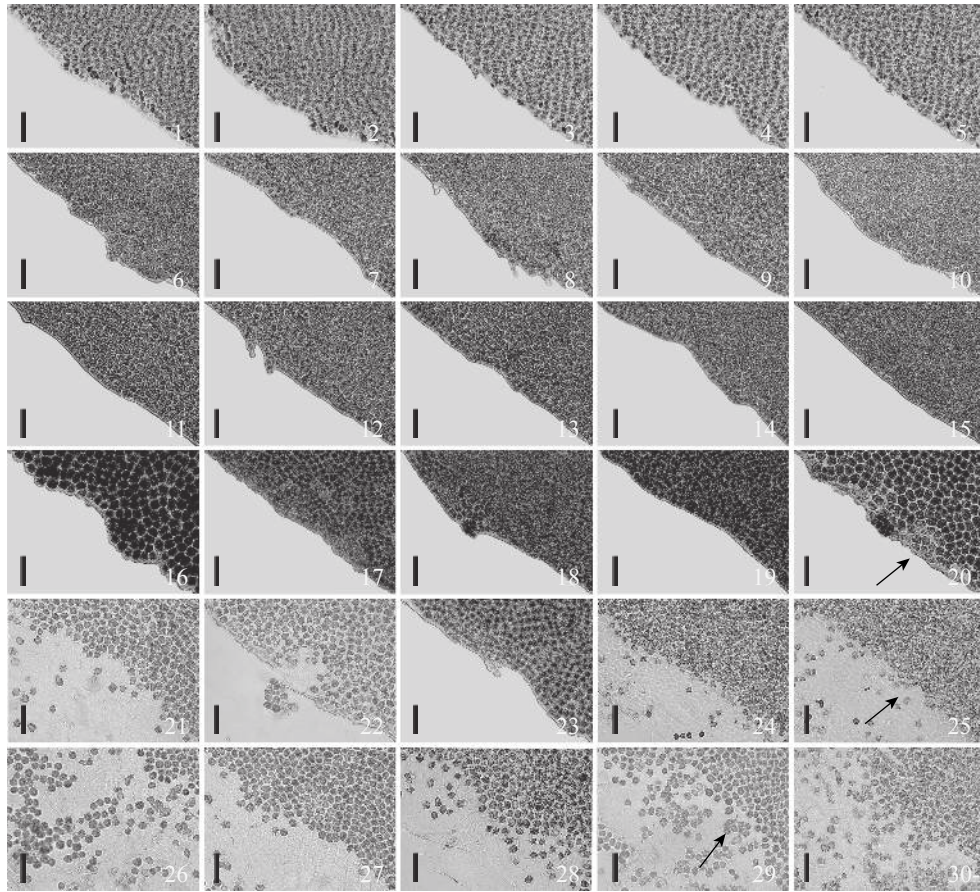


图版 II 日龄40 d的坛紫菜叶状体圆盘体在不同温度下再培养20 d的显微照片

1、6、11、16、21、26. 培养温度均为17 °C; 2、7、12、17、22、27. 培养温度均为20 °C; 3、8、13、18、23、28. 培养温度均为23 °C; 4、9、14、19、24、29. 培养温度均为26 °C; 5、10、15、20、25、30. 培养温度均为29 °C; 图19箭头示果孢, 图24箭头示单性孢子, 图30箭头示丝状体; 图中标尺均代表20 μm

Plate II Micrograph of the discs from 40-day-old gametophytic blades of *P. haitanensis* after being cultured at different temperature for another 20 days

1, 6, 11, 16, 21, 26. the cultivation temperature was 17 °C; 2, 7, 12, 17, 22, 27. the cultivation temperature was 20 °C; 3, 8, 13, 18, 23, 28. the cultivation temperature was 23 °C; 4, 9, 14, 19, 24, 29. the cultivation temperature was 26 °C; 5, 10, 15, 20, 25, 30. the cultivation temperature was 29 °C; the arrow (19) indicates the carpogonia, the arrow (24) indicates the parthenogenetic spores, the arrow (30) indicates the conchocelis; the bars = 20 μm in 1–30



图版 III 日龄40 d的坛紫菜叶状体圆盘体在不同N/P条件下再培养28 d的显微照片

1~5、6~10、11~15、16~20、21~25、26~30分别为再培养0、8、16、20、24、28 d的圆盘体；1、6、11、16、21、26培养条件为N/P = 1 : 1；2、7、12、17、22、27培养条件为N/P = 4 : 1；3、8、13、18、23、28；培养条件为N/P = 16 : 1；4、9、14、19、24、29培养条件为N/P = 32 : 1；5、10、15、20、25、30. 培养条件为N/P = 64 : 1；图20箭头示果孢，图25箭头示单性孢子，图29箭头示丝状体；图中标尺均代表20 μm

Plate III Micrograph of the discs from 40-day-old gametophytic blades of *P. haitanensis* after being cultured in different N/P for another 28 days

1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30. the discs were recultivated for 0, 8, 16, 20, 24, 28 days, respectively; 1, 6, 11, 16, 21, 26. the culture conditions was N/P = 1 : 1; 2, 7, 12, 17, 22, 27. the culture conditions was N/P = 4 : 1; 3, 8, 13, 18, 23, 28. the culture conditions was N/P = 16 : 1; 4, 9, 14, 19, 24, 29. the culture conditions was N/P = 32 : 1; 5, 10, 15, 20, 25, 30. the culture conditions was N/P = 64 : 1; the arrow (20) indicates the carpoconidia, the arrow (25) indicates the parthenogenetic spores, the arrow (29) indicates the conchocelis; the bars = 20 μm in 1-30