

巨藻幼苗光合、呼吸作用的初步研究

凌晶宇^{1,2}, 梁洲瑞², 孙修涛², 王飞久^{2*}, 汪文俊², 刘福利², 马兴宇^{1,2}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 为了研究巨藻幼苗发育及生理生态适应性规律, 以巨藻配子体为材料, 研究光照周期 (10 L:14 D、12 L:12 D、14 L:10 D、16 L:8 D) 对配子体采苗的影响; 以光照强度、温度、营养盐浓度 3 种环境因子设置单因素实验, 研究其对巨藻幼苗 (0.5~1 cm) 的表观光合速率 (P_n)、暗呼吸速率 (R_d) 及相对生长速率 (relative growth rate, RGR) 的影响, 并进行上述 3 因素对 RGR 的正交实验。结果显示: (1) 10 d 后显微观察发现, 长光照周期 (14 L:10 D、16 L:8 D) 下采苗效果较好, 配子体大量发育为孢子体。 (2) 光强为 $70 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、温度为 13°C 和氮营养盐浓度为 2 mg/L ($\text{N/P}=10:1$, 下同) 的条件下幼苗的 RGR 较大, 表观光合速率较强。 $90 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强组的幼苗生长受到抑制, 其 RGR 显著小于其他实验组。 10°C 组的 RGR 显著小于 13°C ($P<0.05$)。氮营养盐浓度上升到 8 mg/L , RGR 显著降低。 (3) 随着营养盐浓度的增加, 幼苗的表观光合速率、暗呼吸速率整体呈现上升趋势, 0.2 mg/L 组的 P_n 显著小于 6 mg/L 、 8 mg/L 组, 且 R_d 与其他组差异性显著 ($P<0.05$)。 (4) 相同光强下, 温度升高, P_n 随之降低, 在 $40 \sim 80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 10°C 、 13°C 组与 16°C 、 19°C 组的 P_n 差异性显著。经正交实验验证, 适宜巨藻幼苗培养条件为光照强度 $40 \sim 70 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、温度 13°C 、氮营养盐浓度 2 mg/L 。

关键词: 巨藻; 温度; 光照强度; 生长速率; 光合速率

中图分类号: Q 975; S 917.3

文献标志码: A

巨藻 (*Macrocystis pyrifera*) 属于褐藻门 (Phaeophycophyta)、海带目 (Laminariales)、巨藻科 (Lessoniaceae)、巨藻属 (*Macrocystis*)^[1], 分布于美洲太平洋沿岸, 自阿拉斯加州开始, 经加拿大、加利福尼亚州沿海至墨西哥, 据报道, 澳大利亚、新西兰、秘鲁、智利等地也有分布^[2]。巨藻具有重要的经济价值, 其蛋白质含量占干重 14.6% 并含多种维生素、矿物质, 可作为食品添加剂, 用于家禽、家畜、鲍鱼养殖饲料^[3]。国内外大量使用巨藻生产褐藻胶, 提炼甘露醇^[4]。巨藻经微生物分解可以产生甲烷, 因此它也是一种具有潜力的生物能源海藻^[5]。中国于 1978 年从墨西哥成功引进巨藻幼苗和配子体, 随后进行海区养殖技术的开发以及育苗、保种技术的研究^[6-8], 为进一

步优化巨藻人工养殖奠定了基础。巨藻作为一种新型经济海藻, 开展巨藻人工育苗以及栽培技术的研究势在必行。

营养盐浓度的高低都会对藻类生长以及光合作用产生影响, 是维持其正常生长所必需^[9-11]。氮、磷在巨藻光合作用过程中起非常重要的作用, 如调节海藻体内光合酶、叶绿素等生化物质的生成与消耗^[12-13], 参与物质代谢循环、一些关键性酶的活性调节等^[14]。关于巨藻幼苗对自然海域中温度、光照的响应机制已有一些报道^[15-17], 在国内有关巨藻生长以及生理作用的研究较少^[18-20]。为获得优质幼苗, 有必要掌握巨藻幼苗生长的适宜条件。本研究通过探讨光照强度、温度、营养盐水平对巨藻幼苗生长以及光合特性的

收稿日期: 2013-12-29

修回日期: 2014-03-17

资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201003068); 蓬莱溢油生物资源养护与渔业生态修复项目 (2013)

通信作者: 王飞久, E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn

影响,将有助于深入认识巨藻幼苗的生态适应性,为完善巨藻人工养殖技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用巨藻配子体由智利带回,置于恒温培养室扩繁培养,培养条件:白色日光灯,光照强度 $10 \sim 16 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,温度 13°C ,光周期 12 L:12 D,氮营养盐浓度 3 mg/L (N:P=1:1),充气悬浮培养。每周换水 2 次,培养 8 周,具体方法参照 Marcela 等^[21]。培养液为灭菌天然海水,营养盐以 NaNO_3 溶液作为氮源, KH_2PO_4 作为磷源,添加 2 mg/L 的 GeO_2 以抑制硅藻繁殖。

1.2 实验方法

巨藻采苗实验 设置 4 个光照周期 (10 L:14 D、12 L:12 D、14 L:10 D、16 L:8 D) 进行配子体克隆采苗实验。取扩繁培养的配子体,用组织捣碎器 (DS-1,上海) 高速多次短时间捣碎至配子体细胞段达到 1~4 个细胞,光照强度 $40 \sim 50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,氮营养盐浓度 3 mg/L (N:P=1:1),充气悬浮培养。10 d 后开始进行显微拍照观察 (图版-1,2)。

不同光照强度、温度和营养盐浓度下巨藻幼苗生长测定 巨藻幼苗置于 GXZ 智能型光照培养箱,在不同条件处理下持续培养 7 d,3 d 换水一次。实验开始前挑选藻体完整、无损伤腐烂的巨藻幼苗 (图版-3~5),平均鲜重为 $(0.020 \pm 0.003) \text{ g}$,各处理组之间的鲜重差异性不显著 ($P > 0.05$)。7 d 后称量一次鲜重,计算相对生长速率 (relative growth rate, RGR),相对生长率的计算公式如下: $\text{RGR} = [\text{Ln}(W_t/W_0)]/t \times 100\%$,其中 W_0 为初始藻的鲜重 (g), W_t 为实验结束时藻的鲜重 (g), t 为实验持续的时间 (d)。

光照实验 设置 10、30、50、70 和 $90 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 5 个光照强度处理组,每组 6 个平行。用 TOPCON-IM2D 照度计 (日本) 标定实验用光照强度。培养条件:温度 13°C ,氮营养盐浓度为 2 mg/L (N:P=10:1)。

温度实验 设置 3 个温度处理组 (10 、 13 和 16°C),每组 6 个平行。培养光照强度 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,氮营养盐浓度为 2 mg/L (N:P=10:1)。

营养盐实验 设置 6 个营养盐处理组 (氮

营养盐浓度 0.2 、 1 、 2 、 4 、 6 和 8 mg/L , N:P=10:1),每组 6 个平行。用 PhotoLab 多参数水质分析仪 (德国 WTW) 标定实验用海水的氮磷浓度。培养光强 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,温度 13°C 。

不同温度和营养盐浓度下巨藻幼苗表观光合速率与呼吸速率的测定 本次实验使用液相氧电极 (Hansatech Oxygraph,英国) 测定光合速率与呼吸速率,反应体系温度由恒温水浴控制,反应介质为灭菌天然海水,以空气饱和的蒸馏水标定液相氧电极的满刻度,通过加入少量 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 粉末标定零刻度,由氧电极自带软件得出表观光合速率和暗呼吸速率数值。

温度实验 设置 4 个温度组 (10 、 13 、 16 、 19°C),每组 9 个平行。巨藻幼苗 $[(0.020 \pm 0.003) \text{ g}]$ 需在每个温度下适应 40 min,然后在对应温度下测定表观光合速率与呼吸速率,得到最大表观光合速率 (maximal net photosynthetic rate, $P_{n\text{max}}$)、饱和光强 (saturation irradiance, I_{sat})、光补偿点 (light compensation point, I_c)。测定条件:氮营养盐浓度为 6 mg/L (N:P=10:1)。每个光强下需稳定 5 min 左右再测量,每次测定在 5 min 之内完成,取较为平滑曲线计算光合速率。反应杯中海水温度恒定,以 500 W 碘钨灯做光源,通过移动光源距离调节光强,并用照度计测定,测定时将探头置于反应杯所在的中心位置,正对光源读数。为使测定值更接近反应杯中的实际光强,根据反应杯壁的透光率对测定值作了校正。先在低光强下测量,当测量光强逐渐增大直至使巨藻叶出现光抑制时,再继续在 1~2 个更高光照强度水平下进行表观光合速率的测量。

营养盐实验 设置 6 个营养盐处理组 (氮营养盐浓度 0.2 、 1 、 2 、 4 、 6 和 8 mg/L , N:P=10:1),每组 9 个平行。培养光照强度 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,温度 13°C 。

正交实验 实验主要研究了温度、光照强度、营养盐浓度 3 个因子对巨藻幼苗相对生长速率的影响。每个因子取 3 水平,每个水平重复 4 次,各因素设置如表 1,实验设计方案见表 2。

1.3 数据分析

采用 Origin 绘制图形,使用 Image-Pro Plus 进行图像编辑及显微测量,SPSS 进行单因子方差分析、多重比较,以 $P < 0.05$ 作为差异显著。数据用平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD) 形式表示。

表 1 巨藻苗生长条件有关因素及取值水平
Tab.1 Environment factors and levels for growth of sporophytes of *M. pyrifera*

水平 levels	因素 factors		
	温度/℃ temperature	光照强度/ [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] light intensity	氮营养盐浓度/(mg/L) nitrogen nutrient concentration
1	10	40	1
2	13	60	2
3	16	80	4

2 结果

2.1 巨藻配子体发育与幼苗的生长情况

在长光照周期(14 L:10 D、16 L:8 D)下采苗效果较好,10 d 后显微镜下观察发现配子体大量发育为孢子体,而中短光照周期(10 L:14 D、12 L:12 D)下,配子体发育为巨藻孢子体的数量较少。

2.2 环境因子对巨藻幼苗生长的影响

光强从 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 升高到 70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,巨藻幼苗 RGR 呈上升趋势,分别为 12.33%、16.38%、16.82%,在 70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,幼苗 RGR 最大,达 17.71%(图 1)。经单因素方差分析表明,光照强度 70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组与 10、90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组的 RGR 相比均呈显著性差异($P < 0.05$),而与其他实验组无显著差异性。同时在 90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 培养条件下幼苗的叶尖部出现“白化”现象。

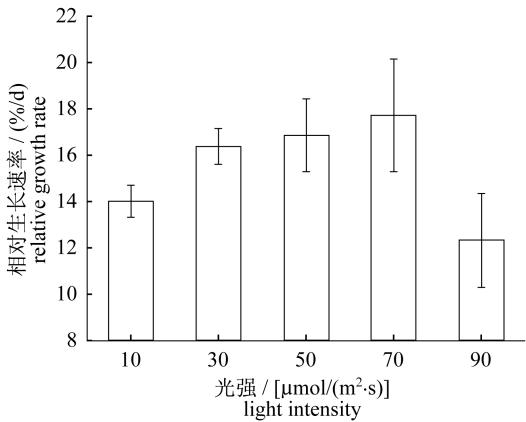


图 1 不同光强度条件下 7 d 后
巨藻幼苗的相对生长速率
Fig.1 Relative growth rates of sporophytes of *M. pyrifera* treated with different light intensity for 7 d of cultivation

在所设置的 3 个温度梯度组中,巨藻幼苗的 RGR 在 13 $^{\circ}\text{C}$ 达到最高,为 16.38%(图 2)。单因素方差分析显示,10 $^{\circ}\text{C}$ 组 RGR 与其他两个实验组相比较均呈显著性差异($P < 0.05$),为 12.04%。16 $^{\circ}\text{C}$ 组与 13 $^{\circ}\text{C}$ 组之间无差异性。

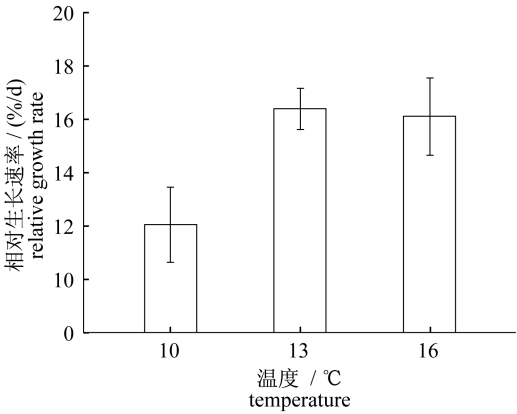


图 2 不同温度条件下 7 d 后
巨藻幼苗的相对生长速率
Fig.2 Relative growth rates of sporophytes of *M. pyrifera* treated with different temperature for 7 d of cultivation

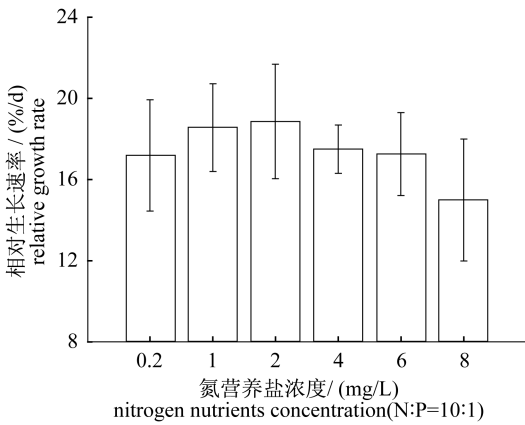


图 3 不同营养盐浓度条件下 7 d 后
巨藻幼苗的相对生长速率
Fig.3 Relative growth rates of sporophytes of *M. pyrifera* treated with different nutrients concentration for 7 d of cultivation

随着氮营养盐浓度的升高,巨藻幼苗相对生长速率先升高后降低,1、2、4、6 mg/L 营养盐组的 RGR 较大,且在 2 mg/L 组达到峰值,为 18.86%(图 3),与 8 mg/L 组相比较均呈现差异性显著($P < 0.05$)。8 mg/L 组相对生长速率最小,与 0.2 mg/L 组相比呈显著差异($P < 0.05$)。实验过

程中,6 mg/L 和 8 mg/L 组中所培养的幼苗出现不同程度的叶尖“白化”。

2.3 不同温度下光强对巨藻幼苗光合作用的影响

10、13、16、19 °C 4 个温度下巨藻幼苗的光补偿点分别约为 2、4、20、30 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, P_n 值分别是 22.10、33.02、36.45、111.14 $\text{nmol}/(\text{mL} \cdot \text{g})$,可见随着温度的上升光补偿点也增大(图 4)。而光饱和点在 120 ~ 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 之间,幼苗的最大表观光合速率($P_{n\max}$)接近,分别为 993.10、988.23、853.35、951.60 $\text{nmol}/(\text{mL} \cdot \text{g})$ 。通过单因素方差分析,在光照强度分别为 40、60、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,10、13 °C 实验组与 16、19 °C 实验组的 P_n 均存在显著性差异($P < 0.05$),且 3 个光照强度下的 P_n 值均随着温度升高而下降。

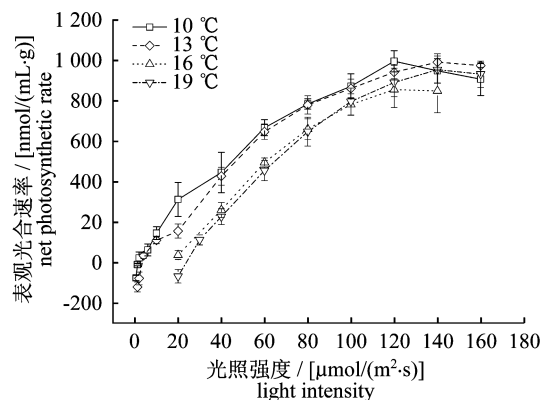


图 4 不同光照强度下巨藻幼苗表观光合速率
Fig. 4 Net photosynthetic rates of sporophytes of *M. pyrifera* treated with different light intensity

巨藻幼苗呼吸速率整体呈现随温度升高而增大的趋势,在 10 °C 出现峰值(图 5),13 °C 呼吸作用最弱,为 140.10 $\text{nmol}/(\text{mL} \cdot \text{g})$,与其他 3 组温度差异性显著($P < 0.05$)。

2.4 营养盐浓度对巨藻幼苗光合作用的影响

随着氮营养盐浓度的增加,巨藻幼苗的表观光合速率整体呈现上升趋势,在 6 mg/L 组时出现峰值(图 6), P_n 为 616.05 $\text{nmol}/(\text{mL} \cdot \text{g})$,与 0.2 mg/L 组差异性显著($P < 0.05$);暗呼吸速率呈下降趋势,4 mg/L 组时出现峰值,呼吸作用为 91.20 $\text{nmol}/(\text{mL} \cdot \text{g})$,且 0.2 mg/L 组与其他各实验组之间差异性显著($P < 0.05$)。表明

巨藻幼苗的光合作用随着营养盐浓度增大而增强。

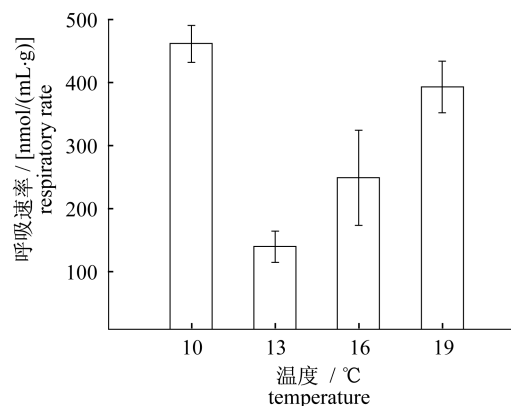


图 5 不同温度下巨藻幼苗呼吸速率
Fig. 5 Respiratory rates of sporophytes of *M. pyrifera* treated with different temperature

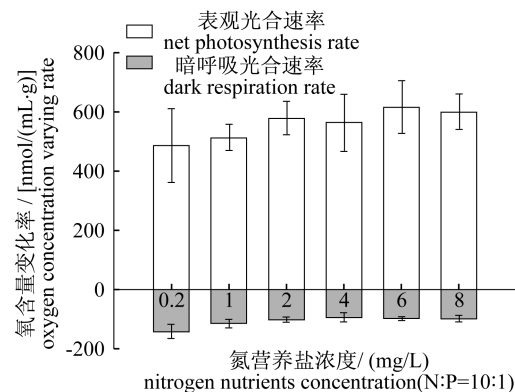


图 6 营养盐浓度对巨藻幼苗表观光合速率与呼吸速率的影响
Fig. 6 Effects of nutrients concentration on net photosynthesis and respiration of sporophytes of *M. pyrifera*

2.5 巨藻幼苗在不同光强、温度和营养盐水平生长的正交实验结果

对比表 2 均值大小,可以得到生长效果较好的组合条件是:温度 13 °C、光照强度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、氮营养盐浓度 1 mg/L。由极差可以看出,巨藻幼苗在实验条件下对温度的影响更敏感,极差值达 2.598。表现在实验中的是较高温度下巨藻幼苗不但长势差,部分叶尖部出现白斑。据极差大小的顺序,可以判定在实验取值范围内,温度和营养盐对巨藻幼苗生长影响较大,而光照强度的影响小于误差项,也就是幼苗对光照强度变化不敏感。

表 2 巨藻幼苗室内生长条件优化正交设计和直观分析

Tab.2 Orthogonal design and intuitionistic analysis for optimization of growth conditions of sporophytes of *M. pyrifera* in laboratory

实验组 test group	1	2	3	4	相对生长速率/(%/d) relative growth rate
	温度/℃ temperature	光照强度/[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] light intensity	氮营养盐浓度/(mg/L) nitrogen nutrient concentration	误差项 error term	
实验 1 test 1	10	40	1		11.452 7
实验 2 test 2	10	60	2		11.830 4
实验 3 test 3	10	80	4		10.581 5
实验 4 test 4	13	40	2		13.921 8
实验 5 test 5	13	60	4		12.693 6
实验 6 test 6	13	80	1		15.041 7
实验 7 test 7	16	40	4		13.240 3
实验 8 test 8	16	60	1		14.982 4
实验 9 test 9	16	80	2		10.828 0
均值 1 average 1	11.288	12.872	13.826	11.658	
均值 2 average 2	13.886	13.169	12.193	13.371	
均值 3 average 3	13.017	12.150	12.172	13.162	
极差 range	2.598	1.019	1.654	1.713	

3 讨论

Deysher 等^[22-23]的研究结果显示,高温条件下巨藻配子体受精率相对较低,并指出温度高于 15 ℃之后受精率会明显下降,随后在巨藻配子体培养实验中发现长光照周期条件下,巨藻配子体受精率在 15 d 左右就可以达到 100%,而短光照周期则需要更长时间才达到相对较高的受精率。在本实验中,短光周期条件下,巨藻卵子活性时间短,生命力弱,表明光周期对于巨藻卵子生长存活的重要性。通过对比其他藻类的培养,可以发现羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)在长光照周期条件下促进卵子的排放,能够有效延长卵子存活时间,提高受精率^[24];海带配子体的生长过程中温度与光照起相互补偿的作用,温度是影响海带配子体成熟的主要因子,光照强度只是辅助因子^[25]。

光照强度作为能源因子对巨藻的生长影响较大,同时作为重要的环境因子之一,与水温、营养盐浓度共同作用,影响巨藻的生长及分布^[26-27]。巨藻不同生长阶段及不同部位对光照强度有不同的适应性,如 Gerard^[28]研究发现,自然海区中巨藻冠层叶片的光饱和点为 141 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,与下层叶片相比具有更高的光合效率,且更易达到光抑制。而在本实验中,巨藻幼苗在光照强度达到 90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,生长速率明显下降,而且

部分叶尖出现“白化”现象。North^[29]研究表明,较低光强下有利于巨藻幼苗色素的积累。光补偿点代表了植物利用弱光的能力,光补偿点越低,利用弱光的能力越强^[30]。低温(10 ℃和 13 ℃)下,巨藻幼苗光补偿点较低,表明幼苗在低温下利用弱光的能力较强。本实验测定巨藻幼苗的光补偿点及光饱和点,可为育苗实践提供重要数据从而更好地根据情况控制光照条件。

有研究表明,在主要影响巨藻生长、发育以及生物量的物理因素中,尤其是在夏季末和秋季初,温度、营养盐浓度的影响尤为明显^[31-33]。水温超过 23 ℃时,巨藻孢子体存活率开始下降,长时间暴露于高温下会加快巨藻根部和叶状体的溃烂^[34]。本实验通过测定不同温度对巨藻幼苗光合、呼吸及生长的影响,发现 13 ℃和 16 ℃下较有利于巨藻幼苗的生长。而 10 ℃下,幼苗呼吸速率较大,相对生长率较低,表明其可能受到了低温胁迫,触动了其自身的抗低温机制,呼吸速率上升从而快速分解自身的淀粉或脂肪,这样可以产生大量热量来抵御低温。这些结果可为巨藻育苗实践中的温度监控提供参考。

营养盐对巨藻幼苗的生长发育有重要的影响。成体巨藻可储存约 2 周所需氮营养物质,而幼苗的储存力则相对较弱^[35],有研究表明巨藻含有筛管分子结构,可在机体内远距离运输甘露醇

和氨基酸等有机物,如筛管分子结构能够利用巨藻基部水域中相对较高的营养物质维持冠层叶片的生长^[36-38]。本实验中,1 mg/L 组、2 mg/L 组巨藻幼苗的 RGR 相对较高,叶片长势良好,6 mg/L 组、8 mg/L 组巨藻幼苗生长受到抑制,且杂藻密度有所增加。可见,室内培育巨藻幼孢子体过程中,适量地添加氮、磷营养盐可以有效提高巨藻的生长速率。叶尖“白化”,可能由于环境因子的胁迫所致,有待进一步探讨。关于营养盐浓度影响巨藻暗光合作用的报道不多,添加营养盐的实验组中,表观光合速率和暗呼吸速率差异性不大,说明巨藻幼苗对海水中氮磷含量的变化有较高的耐受范围。

正交实验显示,巨藻幼苗对温度和营养盐浓度较敏感,而对光强变化不敏感。所以在巨藻育苗过程中要加强对温度和营养盐浓度的监控。

参考文献:

- [1] Liu Y D, Fan X, Hu Z Y. The algae researches in China[M]. Wuhan: Wuhan Press, 2001: 125. [刘永定, 范晓, 胡征宇. 中国藻类学研究. 武汉: 武汉出版社, 2001: 125.]
- [2] Mansilla A, Avila M. Using *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh from southern Chile as a source of applied biological compounds[J]. Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2011, 21(2): 262-267.
- [3] Mateus H, Regenstein J M, Baker R C. The amino acid composition of the marine brown alga *Macrocystis pyrifera* from Baja California, Mexico[J]. Botanica Marina, 1976, 19(3): 155-159.
- [4] Hernan M, Joe M R, Robert C B. Studies to improve the extraction of mannitol and alginic acid from *Macrocystis pyrifera* a marine brown alga[J]. Economic Botany, 1977, 31(1): 24-27.
- [5] Sambhunath G, Donald L, David P C, et al. Bioconversion of *Macrocystis pyrifera* to methane[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1981, 31(3): 791-807.
- [6] Liu T J, Suo R Y, Liu X Y, et al. Introduction of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) from Mexico to China and artificial cultivation of its juvenile sporophytes[J]. Marine Fisheries Research, 1981(3): 69-79. [刘恬敬, 索如瑛, 刘绪炎, 等. 巨藻 (*Macrocystis pyrifera*) 引进与人工育苗. 海洋水产研究, 1981(3): 69-79.]
- [7] Suo R Y, Liu G Y, Shi Z J, et al. Hanging rope experiment for *Macrocystis pyrifera* in the seashore of Nanhuangcheng[J]. Marine Fisheries Research, 1986(7): 1-7. [索如瑛, 刘光涌, 史致基, 等. 南隍城近海巨藻悬绳潜养实验. 海洋水产研究, 1986(7): 1-7.]
- [8] Wang F J, Liu G Y, Zhang S, et al. Studies on submered floating raft culture of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) [J]. Marine Fisheries Research, 1999, 20(1): 64-68. [王飞久, 刘光涌, 张遂, 等. 巨藻潜筏式养殖技术的研究. 海洋水产研究, 1999(1): 64-69.]
- [9] Wheeler P A, North W J. Nitrogen supply, tissue composition and frond growth rates for *Macrocystis pyrifera* off the Coast of Southern California[J]. Marine Biology, 1981, 64(1): 59-69.
- [10] Jackson G A. Nutrients and production of giant kelp, *Macrocystis pyrifera* off southern California[J]. Limnology and Oceanography, 1977, 22(6): 979-995.
- [11] Hepburn C D, Holborow J D, Wing S R, et al. Exposure to waves enhances the growth rate and nitrogen status of the giant kelp *Macrocystis pyrifera* [J]. Marine Ecology Progress Series, 2007, 339(3): 99-108.
- [12] Gerard V A, North W J. Measuring growth, production, and yield of the giant kelp, *Macrocystis pyrifera* [J]. Hydrobiologia, 1984, 117(1): 321-324.
- [13] Zimmerman R C, Kremer J N. In situ growth and chemical composition of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*: Response to temporal change in ambient nutrient availability[J]. Marine Ecology Progress Series, 1986, 27(2): 277-285.
- [14] Hernandez C G, Robledo D, Serviere Z E. Effect of nutrient availability on *Macrocystis pyrifera* recruitment and survival near its southern limit off Baja California[J]. Botanica Marina, 2001, 44(3): 221-229.
- [15] Mahmood S. Interactive effects of light and nitrogen on growth and chemical composition of juvenile *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. (Phaeophyta) sporophytes[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1985, 89(1): 81-96.
- [16] Cabello P A, Aguirre W E, Figueroa F L. Photoinhibition of photosynthesis in *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae), *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and *Ulva lactuca* (Chlorophyceae)

- in outdoor culture systems [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology, 2000, 57 (2): 169 – 178.
- [17] Eva Rothäusler, Iván Gómez, Ulf Karsten, *et al.* Physiological acclimation of floating *Macrocystis pyrifera* to temperature and irradiance ensures long-term persistence at the sea surface at mid-latitudes [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2011, 405 (2): 33 – 41.
- [18] Hu D Q, Wang F J. Research for the relationship between illumination time and *Macrocystis pyrifera* gametophyte and production of juvenile sporophore [J]. Marine Fisheries Research, 1986, 10 (7): 17 – 26. [胡敦清, 王飞久. 光照时间与巨藻配子体和幼孢子体生产关系的研究. 海洋水产研究, 1986, 10 (7): 17 – 26.]
- [19] Hu D Q. Effect of illumination intensity to *Macrocystis pyrifera* juvenile sporophore growth and development [J]. Marine Fisheries Research, 1984, 11 (6): 21 – 26. [胡敦清. 光照强度对巨藻幼孢子体生长发育的影响. 海洋水产研究, 1984, 11 (6): 21 – 26.]
- [20] Wang F J, Wu Z B, Liu G Y, *et al.* Primary investigation of *Macrocystis pyrifera* storage technology [J]. Marine Fisheries Research, 1989, 12 (10): 109 – 114. [王飞久, 武振彬, 刘光涌, 等. 巨藻保种技术初探. 海洋水产研究, 1989, 12 (10): 109 – 114.]
- [21] Marcela A L, Carlos M P, Karen G S, *et al.* Manual de cultivo de macroalgas pardas: Desde El Laboratorio Al Océano [M]. Universidad Arturo Prat, 2012: 13 – 22.
- [22] Deysher L E, Dean T A. Interactive effects of light and temperature on sporophyte production in the giant kelp *Macrocystis pyrifera* [J]. Marine Biology, 1986, 91 (1): 17 – 20.
- [23] Deysher L E, Dean T A. Critical irradiance levels and the interactive effects of quantum irradiance and dose on gametogenesis in the giant kelp, *Macrocystis pyrifera* [J]. Journal of Phycology, 1984, 20 (4): 520 – 524.
- [24] Zhang X. Studies on sexual reproduction and photosynthesis of *Hizikia fusiformis* [D]. Shantou: Shantou University, 2007: 23 – 31. [张鑫. 羊栖菜有性繁殖与光合作用研究. 汕头: 汕头大学, 2007: 23 – 31.]
- [25] Wang J, Zhang Z Y, Zhang X D. Effects of temperature and illumination intensity to *Lochotensis miyabe* gametophyte and sporophore [J]. 1999 (2): 39 – 42. [王军, 张泽宇, 张晓东. 温度与照度对利尻海带配子体及幼孢子体的影响. 中国水产, 1999 (2): 39 – 42.]
- [26] Gerard V A. The light environment in a giant kelp forest; influence of *Macrocystis pyrifera* on spatial and temporal variability [J]. Marine Biology, 1984, 84 (2): 189 – 195.
- [27] Tew K S, Meng P J, Leu M Y. Factors correlating with deterioration of giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae) in an aquarium setting [J]. Journal of Applied Phycology, 2012, 24 (5): 1269 – 1277.
- [28] Gerard V A. Photosynthetic characteristics of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) determined *in situ* [J]. Marine Biology, 1986, 90 (3): 473 – 482.
- [29] North W J. Pigment content and photosynthetic rate of the fronds of *Macrocystis pyrifera* [J]. Marine Biology, 1980, 56 (2): 97 – 102.
- [30] Pan R Z, Dong Y D. Plant physiology [M]. Beijing: High Education Press, 1995: 52 – 77. [潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 1995: 52 – 77.]
- [31] Dean T A, Jacobsen F R. Growth of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Laminariales) in relation to environmental factors [J]. Marine Biology, 1984, 83 (3): 301 – 311.
- [32] Dean T A, Jacobsen F R. Nutrient-limited growth of juvenile kelp, *Macrocystis pyrifera*, during the 1982 – 1984 “ El Niño ” in southern California [J]. Marine Biology, 1986, 90 (4): 597 – 601.
- [33] Pirker J G. Demography, biomass production and effects of harvesting giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) in southern New Zealand [D]. Canterbury: University of Canterbury, 2002.
- [34] Liu T J, Suo R Y, Liu X Y, *et al.* Eleventh International Seaweed Symposium Developments in Hydrobiology [C] // Bird C J, Ragan M A. Eleventh International Seaweed Symposium, Canada: Springer Netherlands, 1984: 259 – 262.
- [35] Gerard V A. Growth and utilization of internal nitrogen reserves by the giant kelp *Macrocystis pyrifera* in a low-nitrogen environment [J]. Marine Biology, 1982, 66 (1): 27 – 35.
- [36] Konotchick T, Parnell P E, Dayton P K, *et al.* Vertical distribution of *Macrocystis pyrifera* nutrient exposure in southern California [J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2012, 106 (6): 85 – 92.

- [37] Schmitz K, Srivastava L. Long distance transport in *Macrocystis integrifolia*. I. Translocation of ^{14}C -labeled assimilates [J]. Plant Physiology, 1979, 63 (6): 995 – 1002.
- [38] Pallotta M F, Mendoza E G, Ladah L B. Photosynthetic performance, light absorption, and pigment composition of *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae) blades from different depths [J]. Journal of Phycology, 2006, 42 (6): 1225 – 1234.

Primary investigations on the photosynthesis and respiration of *Macrocystis pyrifera*

LING Jingyu^{1,2}, LIANG Zhouhui², SUN Xiutao², WANG Feijiu^{2*},
WANG Wenjun², LIU Fuli², MA Xingyu^{1,2}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture,
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: For clarifying the development and ecological adaptability of juvenile sporophytes of *Macrocystis pyrifera*, the effects of photoperiod (10 L: 14 D, 12 L: 12 D, 14 L: 10 D, 16 L: 8 D) on gametophyte clone seed-rearing of *M. pyrifera* were studied. And, the impacts of light intensity, temperature, nutrients concentration on the growth, net photosynthetic rate (P_n), dark respiratory rate (R_d) of sporophytes (0.5 – 1 cm) of *Macrocystis pyrifera* were investigated by single factor test and orthogonal experiment. The major results included: (1) Large numbers of gametophytes developed into sporophytes at long photoperiod (14 L: 10 D, 16 L: 8 D). (2) The highest value for relative growth rate (RGR) and P_n were observed at 70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ light intensity, 13 $^{\circ}\text{C}$ temperature and 2 mg/L nitrogen concentration (N: P = 10: 1, the same below). The growth of sporophytes was inhibited when exposure to 90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, RGR of which was significantly lower than other tests. RGR at 10 $^{\circ}\text{C}$ was significantly lower than that at 13 $^{\circ}\text{C}$ ($P < 0.05$). And RGR significantly decreased when exposure to 8 mg/L nitrogen concentration. (3) P_n and R_d presented the rising trend with increased nutrients concentration. P_n of 0.2 mg/L group was significantly lower than that at 6 mg/L and 8 mg/L group. R_d significantly different compared with other groups while cultured at 0.2 mg/L ($P < 0.05$). (4) P_n decreased with rising of temperature while cultured at the same light intensity. At the range of 40 – 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, P_n was significantly different between 10, 13 group and 16, 19 $^{\circ}\text{C}$ group. According to orthogonal experiment, the optimum light intensity, temperature and nitrogen concentration for cultivation of sporophytes of *M. pyrifera* were 40 – 70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 13 $^{\circ}\text{C}$ and 2 mg/L. Our results provide guidance for the optimization of artificial breeding technologies for *M. pyrifera*.

Key words: *Macrocystis pyrifera*; temperature; light intensity; growth rate; photosynthetic rate

Corresponding author: WANG Feijiu. E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn



图版

1. 巨藻雌雄配子体; 2. 受精卵; 3. 幼孢子体及假根; 4. 充气扩增培养; 5. 经过 8 周培育,用于实验的巨藻幼苗; 6. 海上移植养殖前巨藻幼苗; 7. 巨藻海上养殖 4 周; 8. 气囊; 9. 二叉分裂生长

Plate

1. male and female gametophytes of *M. pyrifera*; 2. zygotes; 3. juvenile sporophytes and rhizoids of *M. pyrifera*; 4. multiplication culture with aeration; 5. sporophytes of *M. pyrifera* cultured within 8 weeks which used as experimental materials; 6. juveniles of *M. pyrifera* before the transplanting; 7. photograph of *M. pyrifera* cultured within 4 weeks at the sea; 8. pneumatocysts of *M. pyrifera*; 9. merisis at stipe of *M. pyrifera*