

文章编号: 1674-5566(2010)04-0457-06

坛紫菜耐高温品系的选育与海区中试

吕峰^{1,2}, 严兴洪¹, 刘长军³, 张鹏⁴, 王铁杆⁴, 郑岳夫³

(1 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2 南通农业职业技术学院, 江苏 南通 226007;

3 浙江省象山县水产养殖技术推广站, 浙江 象山 315700;

4 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325000)

摘要: 利用人工诱变和体细胞再生技术, 选育出可在 30℃ 下生长的坛紫菜耐高温品系(Q-1), 实验结果表明: (1)在高温(28℃和30℃)下培养 15 d Q-1品系的壳孢子成活率分别为 76.8%和 60.1%, 分裂率分别为 100%和 83%;而对照组野生型(WT)品系的壳孢子成活率分别为 15.9%和 6.7%, 分裂率分别为 90.4%和 63.8%。Q-1品系的壳孢子成活率和分裂率均远高于 WT品系。(2)在常温(24℃)下培养 35 d的 Q-1和 WT品系壳孢子苗, 在 24℃、28℃和 30℃组中再分别培养 25 d Q-1品系的苗平均体长分别增加了 19.4、10.8和 2.8倍, 而 WT品系的苗平均体长分别只增加了 7.3、1.7和 0.9倍; Q-1品系的苗平均体长分别为 WT品系的 2.5、5.8和 1.9倍。另外, 在 28℃和 30℃中培养 15 d的 WT品系幼苗发生了大面积腐烂;而 Q-1品系幼苗没有出现任何烂苗迹象, 表现出较好的生长。Q-1品系在海区中试中也表现出很好的耐高温特性。2008年秋季, 坛紫菜采苗后遇到了长时间的高温天气, 当地传统养殖的坛紫菜野生种发生了大规模腐烂与脱苗, 产量大幅度减少;而 Q-1品系的苗仍然维持良好的生长势头, 没有出现烂苗, 取得了高产。由此证实, Q-1品系是既能较快生长又耐高温的品系, 有很大的生产应用价值。

关键词: 坛紫菜; 耐高温品系; 叶状体; 壳孢子; 生长

中图分类号: S 968.43 **文献标识码:** A

Selection of a high-temperature tolerant strain of *Porphyra haitanensis* and its cultivation in sea area

LÜ Feng^{1,2}, YAN Xing-hong¹, LIU Chang-jun³, ZHANG Peng⁴, WANG Tie-gan⁴, ZHENG Yue-fu³

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

2. Nantong Agricultural Vocational Technology college Nantong 226007, China;

3. Xiangshan Fisheries Technical Extension Center Xiangshan 315700, China;

4. Zhejiang Mariculture Research Institute Wenzhou 325000, China)

Abstract: *Porphyra haitanensis* is one of the most important cultivars of marine algae in China but its production and quality can be significantly jeopardized by execrable environments such as high temperature therefore selection of a heat-resistant strain will greatly benefit the nori industry. To this end in the present study we selected a meliorated strain Q-1 which has significant heat-tolerance to 30℃. Upon further

收稿日期: 2009-06-04

基金项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A413); 国家自然科学基金(30571443); 上海市优秀学科带头人项目(07XD14028); 上海市教委重点学科建设项目(J50701); 宁波市重大科技攻关委托项目(200702C1011026)

作者简介: 吕峰(1979-), 男, 硕士研究生, 专业方向为海洋生物技术。E-mail: ll@smail.shou.edu.cn

通讯作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

characterizing the cultures of strains Q⁻¹ and WT at 28 and 30 °C, we show here that in a period of 15 days the Q⁻¹ conchospores survived at rates of 76.8% and 60.1%, respectively while the WT conchospores survived at much lower rates of 15.9% and 6.7%. The Q⁻¹ conchospores also divided at significantly higher rates of 100% and 83%, as compared with those of 90.4% and 63.8% for the WT conchospores respectively. When the 35-day-old conchospore germings were cultured at 24, 28 and 30 °C for 25 days the mean length of blades increased 19.4, 10.8 and 2.8 times for Q⁻¹, and only 7.3, 1.7 and 0.9 times for WT compared with the original mean length, respectively. At 24, 28 and 30 °C, the blades of strain Q⁻¹ grew 1.5, 4.8 and 0.9 times faster than those of the WT; the blades of WT strain began to decay after being cultured for 15 days however the blades of Q⁻¹ strain did not decay even being cultured for 25 days. The blades of Q⁻¹ strain also showed excellent high-temperature tolerance during its large-scale cultivation in sea area. In the last autumn, the high temperature (28–30 °C) continued for about two months after conchospore-seeding of *Porphyra haitanensis*, the blades of the WT decayed on a large scale and the production decreased significantly; while the blades of the Q⁻¹ grew normally with rapid growth and did not decay and the production was much higher than that of the WT. The above results indicated that the strain Q⁻¹ is a fast growing and heat-resistant strain that may offer broad applications for the nori industry.

Key words: *Porphyra haitanensis*; high-temperature tolerant strain; gametophytic blades; conchospores; growth

属于我国重要海水养殖行业之一的紫菜栽培有着巨大的经济效益和修复近海水域生态的功效。坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*) 是我国最主要的栽培品种, 其栽培面积和产量均为全国紫菜的首位, 它的产量占全国紫菜产量的 75% 左右^[1]。

近年来, 大量的坛紫菜人工色素突变体已分离出来^[2-8], 多个色素突变体被用于基础遗传学与育种学等研究^[9-10]。另外, 多个坛紫菜优质高产品系也被选育出来, 如“申福 1 号”等优良品系已经在生产中得到了一定应用, 取得了明显的增产增收效果^[11]。

迄今为止, 坛紫菜大规模栽培所用的品种仍然以野生种为主, 被栽培了 40 多年的野生种, 由于栽培规模的持续扩大、栽培密度过大、再加上生产上基本上是从近交群体的后代中取种等原因, 使紫菜种质出现了严重退化, 表现出产量和品质下降, 对病害和高温等逆境生态条件的抵抗能力下降。近年来, 坛紫菜秋季采苗季节的水温相对上升, 采苗后 1 个月左右发生水温的回升, 即所谓的“小阳春”已严重影响了生产的正常开展。2008 年 9 月至 10 月, 在福建闽东和浙江温州等地, 出现了持续一个多月的高温天气, 造成坛紫菜幼苗的生长严重受阻, 并发生了大规模腐烂, 苗从网绳上大量脱落, 使菜农遭受数亿元的经济损失。因此, 培育出耐高温的坛紫菜优良品

种对维持生产的稳定开展是十分迫切, 具有重要研究与应用价值。

有关坛紫菜的耐高温品系, 我们已进行了初步的分离与筛选^[12], 分离出 2~3 cm 的壳孢子萌发体可以在 28~29 °C 下生存的品系。本文的目的在于筛选出能耐更高温度的坛紫菜耐高温品系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本试验所用的坛紫菜野生型品系 (WT), 其叶状体采自福建平潭岛自然岩礁上, 以自由丝状体的形式被保存在实验室内。用于筛选耐高温品系的坛紫菜品系为 YZ⁻¹, 它是从经⁶⁰Co- γ 射线辐照的野生叶状体中分离出来的^[7]。坛紫菜叶状体的室内培养方法同文献 [7]。

1.2 方法

1.2.1 耐高温品系的分离

把坛紫菜 YZ⁻¹ 品系的壳孢苗培养至 5 cm 左右, 进行诱变处理, 处理方法同文献 [7]。经诱变处理后的 YZ⁻¹ 的壳孢苗被培养约一个月后, 用酶解法分离出大量的体细胞, 并进行个体再生培养。从再生体中分离出一棵生长良好的叶状体 (暂定名为 Q⁻¹), 另外, 再取一棵野生品系的体细胞再生体, 从各叶片上分别取 20 个圆盘体 ($d=3$

mm),每10个一组置于培养瓶(500 mL)内进行冲气培养,培养温度分别为24℃和28℃,光照密度为90 μmol/(m²·s),光周期10 L:14 D,海水盐度为26,培养液由自然海水加MES培养基配成^[13],每隔3天换一次培养液,每隔5天测量一次圆盘体的大小。将被确认为耐高温的Q-1叶状体继续培养,通过单性生殖获得自由丝状体,取品系名为Q-1。

1.2.2 耐高温品系的壳孢子和壳孢苗耐高温性测试

WT和Q-1品系的丝状体释放的壳孢子分别被倒入培养皿(d=9 cm),静止24 h后,计数每个培养皿内的壳孢子数(20个视野,10×),获得单个视野的壳孢子平均数,然后将盛有壳孢子的培养皿分别置于24℃、28℃和30℃下培养,其它培养条件同1.2.1。每隔5天换一次培养液,每隔3天观察一次壳孢子的存活及分裂情况。用于壳孢苗耐高温性试验的壳孢苗是在24℃下已培养35 d的WT和Q-1品系的健康苗(体长约2 cm),随机挑出各30棵,每10棵一组,分3组置于培养瓶冲气培养,培养温度分别为24℃、28℃和30℃,其它培养条件同1.2.1。每隔3天换一次培养液,每隔5天测量一次叶状体长度。

1.2.3 Q-1品系的海区生产中试

把Q-1品系的自由丝状体移植到贝壳,培养出贝壳丝状体,具体培养方法和壳孢子采苗方法

与当地育苗户培育坛紫菜野生种相同。

2 结果

2.1 耐高温品系的分离

如图版I-1所示,在28℃下培养的25 d WT圆盘体颜色先变浅,随后逐渐变黄,最后变白;而Q-1品系的叶片颜色由亮红逐渐转为暗红。WT圆盘体生长缓慢,培养到第8天时出现腐烂,到第22天几乎全部烂光;Q-1的圆盘体保持较快生长,培养25 d叶片也未出现腐烂,因此,初步认为Q-1品系具有耐高温特性。

2.2 WT和Q-1品系的壳孢子耐高温性差异

如表1和表2所示,培养至第5天,28℃和30℃组的WT壳孢子萌发体,其存活率非常低,分别是15.9%和6.7%,分裂率分别为90.4%和63.8%;而Q-1品系的壳孢子萌发体的存活率分别高达76.8%和60.1%,分裂率也很高,分别为100%和83%。与WT品系相比,两者的差异极显著(P<0.01)。观察常温(24℃)和高温(28℃和30℃)下培养的壳孢子萌发体发现,在常温下生长的壳孢子萌发体形状规则呈披针型,光泽鲜艳;而在高温下生长的壳孢子萌发体,有的形态出现不规则呈畸形,且颜色变红偏黄(图版I-2~7)。

表1 在24℃、28℃和30℃下培养的坛紫菜WT和Q-1品系的壳孢子存活率
Tab. 1 The survival rates of the conchospore germ lings of WT and Q-1 strains in *Porphyra haitanensis* cultured at 24℃, 28℃ and 30℃

培养天数	WT			Q-1		
	24℃	28℃	30℃	24℃	28℃	30℃
3	89.9	21.7	13.7	85.2*	87.2**	74.5**
6	83.9	19.0	10.5	84.5*	83.4**	68.3**
9	82.1	17.8	9.0	83.2*	82.5**	65.9**
12	80.2	16.6	7.8	81.5*	80.0**	62.3**
15	79.1	15.9	6.7	80.5*	76.8**	60.1**

注: *表示差异显著(P<0.05), **表示差异极显著(P<0.01)。

表2 在24℃、28℃和30℃下培养的坛紫菜WT和Q-1品系的壳孢子分裂率
Tab. 2 The division rates of the conchospore germ lings of WT and Q-1 strains in *Porphyra haitanensis* cultured at 24℃, 28℃ and 30℃

培养天数	WT			Q-1		
	24℃	28℃	30℃	24℃	28℃	30℃
3	88.6	72.3	30.3	92.5**	88.7**	71.2**
6	92.7	78.9	0.5	94.9**	93.2**	74.5**
9	97.8	84.2	52.0	98.2	95.2**	78.3**
12	100.0	88.3	58.2	100.0	99.4**	81.2**
15	100.0	90.4	63.8	100.0	100.0**	83.0**

注: **表示差异极显著(P<0.01)。

2.3 WT和 Q-1品系的叶状体耐高温性差异

在常温 24℃ 下培养 35 d 的 WT 幼苗,再分别置于 28℃ 和 30℃ 下培养,生长速度变慢,培养 15 d 叶片出现变白的烂洞。28℃ 和 30℃ 组的苗生长远差于 24℃ 组,但 28℃ 和 30℃ 两组间的生长差异不大(图 1)。培养 25 d 后,叶状体上腐烂程度更加严重,叶片变厚后出现严重卷曲(图版 II -2~3)。而在 28℃ 和 30℃ 下培养的 Q-1 幼苗其生长明显比 WT 快,随着培养时间的延长,高温组的叶状体也出现变厚,颜色加深,在 30℃ 组也出现了部分卷曲,但培养 25 d 的 Q-1 幼苗也没有出现腐烂现象。28℃ 组的 Q-1 品系的幼苗生长比 30℃ 组快,但比常温组慢(图 2)。高温组(28℃ 和 30℃)幼苗的生长与常温组幼苗的生长相比虽存在较大差异,但其差异没有 WT 品系明显(图版 II -5~6)。培养 25 d 后, Q-1 品系的苗平均体长在 24℃, 28℃ 和 30℃ 组分别增加了 19.4、10.8 和 2.8 倍,而 WT 品系的苗平均体长分别只增加了 7.3、1.7 和 0.9 倍。Q-1 品系的苗平均体长,在 24℃ 组中是 WT 品系的 2.5 倍,但在 28℃ 和 30℃ 组中分别是 WT 品系的 5.8 倍和 1.9 倍。

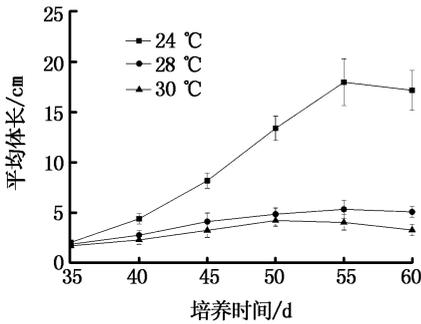


图 1 在 24℃、28℃ 和 30℃ 下培养的坛紫菜 WT 品系叶状体的生长情况

Fig 1 Blade growth of WT strain of *Porphyra haitanesis* cultured at 24℃, 28℃ and 30℃

2.4 Q-1品系的海区生产中试结果

从 2008 年 9 月初到 10 月底,福建霞浦古桶海区的水温保持在 28~30℃,属于连续高温天气。如图版 III -1~4 所示,栽培在上述海区的 Q-1 品系的苗生长良好,颜色鲜艳,光泽好。但栽培在相同海区的当地传统野生种的苗,尽管采苗和下海栽培时间与 Q-1 品系基本一样,但生长很

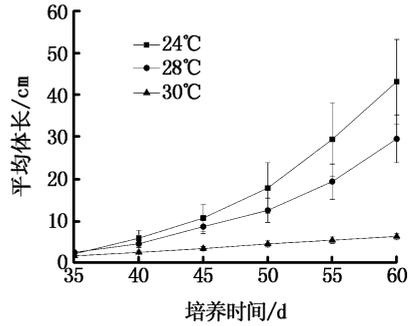


图 2 在 24℃、28℃ 和 30℃ 下培养的坛紫菜 Q-1 品系叶状体的生长情况

Fig 2 Blade growth of Q-1 strain of *Porphyra haitanesis* cultured at 24℃, 28℃ and 30℃

慢,同时出现了大规模的烂苗和脱落,使得网帘上原来很密的苗变得稀稀落落,附着力很差,稍许一碰就脱落,有的网上几乎没有紫菜苗,全是绿藻。于 10 月 28 日随机抽样检查, Q-1 品系的苗,最长为 54 cm,最短为 10.5 cm,平均体长为 26.4 cm,平均每米网绳上的鲜菜毛重(含绳重)为 80 克;而当地栽培品种(野生型)的苗,最长为 28.4 cm,最短为 9 cm,平均体长为 15.7 cm,平均每米网绳上的鲜菜毛重(含绳重)为 27.5 克。无论在苗的长度还是鲜菜毛重, Q-1 品系远比野生品种好,表现出明显的耐高温特性。

3 讨论

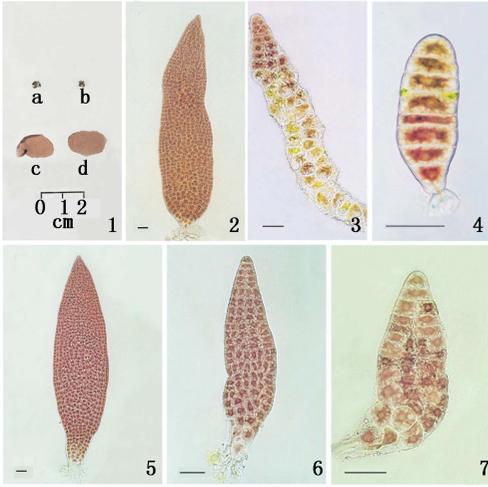
坛紫菜壳孢子放散时的水温较高,当水温降至 27℃ 时,就会出现大量放散,采苗的合适温度在 25~27℃,过高或过低均不适宜壳孢子的萌发生长^[14]。随着水温的下降,壳孢子萌发体也逐渐生长,发育成较大的叶状体之后,如果水温回升,生长速度随着温度的升高而减慢,如果水温出现较长时间的回升,叶状体就会脱网或病烂^[15]。本研究中对野生品系和 Q-1 品系的叶状体进行耐高温测试也证实了这一观察,在 24℃ 下培养 35 d 的坛紫菜 WT 品系的壳孢子萌发体转入 28℃ 下培养 8 d 就出现腐烂,到第 22 天几乎完全腐烂。而 Q-1 品系的壳孢子萌发体在 30℃ 下培养 25 d 也不出现腐烂,比较耐高温。

据近 5 年的调查,每年的坛紫菜都在壳孢子采苗后 40 d 左右时,遭遇到水温较大幅度的回升,造成苗生长停止,严重时造成烂苗掉苗,给生产带来很大的损失。2008 年 9—10 月,正好是坛

紫菜壳孢子采苗后下海养殖和幼苗生长期,在长达五十多天的持续高温天气下,福建霞浦海区的水温比往年高出 $2\sim 3\text{ }^{\circ}\text{C}$,严重影响了壳孢子的萌发和苗的正常生长,当地传统养殖的野生品种,由于对高温的耐受性差,发生了严重的腐烂和脱落,而Q-1品系的苗没有发生任何烂苗现象出现,尽管苗的生长也受到了一定程度的抑制,但苗的颜色和附着力都很好,表现出良好的耐高温特性。第一水菜收割后,水温开始下降,Q-1品系的生长很快恢复正常,获得了很好的产量和经济效益;而野生品种的苗即使水温降低了,其生长仍然较慢,可能前期的高温已使苗受到了很深的伤害。上述海区中试的结果进一步佐证了该品系确实是很耐高温,有可能在紫菜生产上得到广泛应用。

参考文献:

- [1] 马家海,蔡守清. 条斑紫菜的栽培与加工[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 12—13.
- [2] Yan X H, Aniga Y. Induction of pigmentation mutants by treatment of monospore gemlings with MNNG in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales Rhodophyta) [J]. *Algae* 1997, 12: 39—54.
- [3] 严兴洪, 田中次郎, 有贺佑胜. 条斑紫菜色彩突变体的诱导、分离和特性分析 [J]. 水产学报, 2000, 24 (3): 221—228.
- [4] 许璞, 费修缙, 张学成, 等. 紫菜色素突变体诱导的研究—Ⅰ. NG对紫菜壳孢子诱变的效果及遗传分析 [J]. 海洋通报, 2002, 21 (5): 19—25.
- [5] 许璞, 费修缙, 张学成, 等. 紫菜色素突变体诱导的研究—Ⅱ. NG对紫菜壳孢子诱变的效果及遗传分析 [J]. 海洋通报, 2003, 22 (1): 24—29.
- [6] 严兴洪, 梁志强, 宋武林, 等. 坛紫菜人工色素突变体的诱变与分离 [J]. 水产学报, 2005, 29 (2): 166—172.
- [7] 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.
- [8] Yan X H. Induction, isolation and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales Rhodophyta) [D]. Thesis for Doctor of Science Tokyo, Tokyo University of Fisheries 1997.
- [9] Ohme M, Kunifuji Y, Miura A. Cross experiments of the color mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. *Jap J Phycol* 1986, 34: 101—106.
- [10] Miura A, Shin J A. Cross breeding in cultivars of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales Rhodophyta). A preliminary report [J]. *Korean J Phycol* 1989, 4: 207—211.
- [11] 宋武林. 坛紫菜优良品系“申福一号”苗种培育技术研究 [J]. 南方水产, 2006, 2 (4): 19—23.
- [12] 严兴洪, 马少玉. 坛紫菜抗高温品系的筛选 [J]. 水产学报, 2007, 31 (1): 112—119.
- [13] 王素娟, 张小平, 徐云龙, 等. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 [J]. 海洋学报, 1986, 17 (3): 217—221.
- [14] 福建省水产局. 坛紫菜人工养殖 [M]. 福州: 福建人民出版社, 1979: 1—101.
- [15] 曾呈奎, 王素娟, 刘思俭, 等. 海藻栽培学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1984: 155—169.



图版 I 坛紫菜野生品系 (WT) 和 Q-1 品系的叶状圆盘体的耐高温试验以及培养在不同温度下的 WT 和 Q-1 品系的壳孢子萌发体的生长与发育

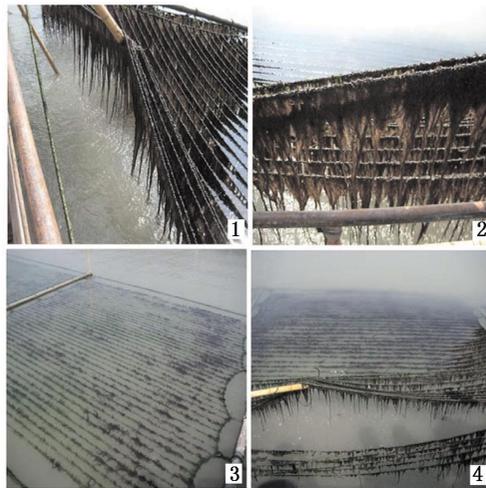
图版 II 在 24℃ 下培养 35 d 的坛紫菜 WT 与 Q-1 品系幼苗在不同温度下培养 25 d 后的叶状体

Plate I Blade discs of the wild type (WT) and the Q-1 strain cultured at high-temperature and the conchospore germlings cultured at different temperature in *Porphyra haitanensis*

Plate II The 35-day-aged gametophytic blades of the strains WT and Q-1 after cultured at 24℃, 28℃ and 30℃ for another 25 days in *Porphyra haitanensis*

1. 28℃ 下培养 15 d 的圆盘体; a b 为 WT 品系; c d 为 Q-1 品系; 2~4. 分别为 24℃, 28℃, 30℃ 下培养 18 d 的 WT 壳孢子萌发体; 5~7. 分别为 24℃, 28℃, 30℃ 下培养 18 d 的 Q-1 壳孢子萌发体; 图中标尺均代表 50 μm。

1~3. 在 24℃, 28℃, 30℃ 下培养的 WT 品系叶状体; 4~6. 在 24℃, 28℃, 30℃ 下培养的 Q-1 品系叶状体。



图版 III 坛紫菜耐高温品系 (Q-1) 和野生品系 (WT) 的海上养殖情况比较
Plate III Comparison on large-scale cultivation of the strains Q-1 and WT at sea area for 60 days in *Porphyra haitanensis*

1~2. Q-1 品系采收前的第一水菜 (日龄 60 d); 3~4. WT 品系采收前的第一水菜 (日龄 60 d)。