

文章编号: 1000-0615(2016)06-0933-13

DOI: 10.11964/jfc.20151210201

印度产紫菜 *Pyropia chauhanii* 优良品系的选育与特性分析

陈莎莎¹, 丁洪昌¹, 严兴洪^{1,2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 为培育出藻体薄且适合在我国南方高水温海区栽培的紫菜新品种, 利用⁶⁰Co-γ射线辐照和高温胁迫处理印度产紫菜 *Pyropia chauhanii* 野生型品系 (PC-WT) 的叶状体, 分离出优良品系 PC-M, 随后通过研究2个品系在耐高温性、生长、主要光合色素含量、单孢子和壳孢子放散量等方面的差异后发现, 在18和23℃温度组中, 2个品系的壳孢子存活率、分裂率和假根发生率均无显著性差异, 但在27和29℃温度组中, PC-M品系的壳孢子存活率比PC-WT品系分别提高了250.7%和305.4%, 分裂率分别提高了42.4%和67.1%, 假根发生率分别提高了86.6%和175.3%; 将在23℃下培养30 d的叶状体分别置于18、23、27和29℃下培养10 d, 在18、23和27℃组中, PC-M品系的叶状体绝对生长率分别是PC-WT品系的5.1、5.3和7.5倍, 特定生长率分别是PC-WT品系的1.3、1.3和1.8倍; 在27℃下培养15 d或在29℃下培养10 d, PC-WT品系的叶状体均放散了大量的单孢子, 藻体流失严重, 只剩下基部, 而PC-M品系的叶状体均没有放散单孢子、藻体形态完整、光泽好、生长速率快, 培养至30 d后才发生轻微的卷曲。与PC-WT品系相比, 常温组(23℃)的PC-M品系的3种主要光合色素(chl. a、藻红蛋白和藻蓝蛋白)含量以及壳孢子放散量分别提高了39.4%、209.8%、94.8%和36.7%, 但藻体的平均厚度反而减少了31.6%。上述结果证实, 与PC-WT品系相比, PC-M品系具有藻体薄、色素含量高、生长快、耐高温、壳孢子放散量大、单孢子不放散等优点, 有望被培育成适宜栽培的新品种。

关键词: *Pyropia chauhanii*; ⁶⁰Co-γ射线; 优良品系; 叶状体; 壳孢子; 耐高温

中图分类号: S 968.4

文献标志码: A

目前, 在中国、日本和韩国被大规模人工栽培的紫菜品种有坛紫菜 (*Pyropia haitanensis*) 和条斑紫菜 (*P. yezoensis*)^[1], 前者为中国的特有种, 主要分布于中国的东南沿海, 被广泛栽培于中国南方的浙江、福建和广东三省^[2]; 后者主要分布于北太平洋西岸^[3], 在中、日、韩三国被大规模栽培^[4], 在中国则被栽培于长江以北的江苏和山东^[5]。紫菜藻体的厚度往往制约着紫菜的加工方式, 也影响了紫菜二次加工产品和附加值的提升。

坛紫菜的年产量虽占中国紫菜总年产量的75%以上, 但它的总产值却与年产量只占25%左右的条斑紫菜相当^[6], 其原因之一是条斑紫菜的藻体薄, 适合于全自动机械化加工, 初级产品经二次深加工后, 被制成附加值较高的寿司海苔等^[7]。坛紫菜因其藻体较厚, 多被半机械化或者手工日晒加工成价值较低的圆饼菜, 不太适合进行二次深加工^[7]。近十年来, 数个坛紫菜新品种已被选育出来, 其厚度与野生型坛紫菜相比有一定

收稿日期: 2015-12-17 修回日期: 2016-02-08

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A411); 国家自然科学基金(31072208); 国家海洋局公益专项(201105008, 201105023); 国家农业科技成果转化资金(2013GB2C220537); 农业部公益性专项(200903030); 上海市科委重点科技攻关项目(10391901100); 上海高校水产学一流学科建设项目; 福建省科技重大专项(2011NZ0001-1); 福建省省长专项基金(2014S1477-10)

通信作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

幅度的减少^[8-10],但仍无法与条斑紫菜相媲美。此外,部分学者还尝试了南移条斑紫菜至适合于坛紫菜栽培的闽浙海区进行栽培,虽有小规模的移栽成功报道,但由于福建等地的水温较高且持续时间长,适宜于条斑紫菜生长的低水温期偏短,影响了其产量和品质^[11-12]。

印度产紫菜 *P. chauhanii* 属亚热带种, Murray^[13]首次报道了该紫菜的分布。Kumar等^[14]和张岩岩^[15]分别对该紫菜的形态特征和部分生活史进行了研究。该紫菜种的主要特点为藻体薄,叶状体产生单孢子,它的最适生长温度与坛紫菜相当,适合在中国的南方沿海栽培,但该紫菜的野生型品系有一个致命的缺陷,即叶状体很容易大量放散单孢子,致使藻体无法长大^[16]。本实验的目的是通过人工诱变处理 *P. chauhanii* 的野生型品系叶状体,获得生长快、生长期长、单孢子少放或不放、耐高温的优良品系,并逐步将其培育成适宜栽培的新品种,改变我国南部地区紫菜栽培品种单一化的局面,进一步改善紫菜产品的结构,提升紫菜的产量和质量。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用的材料为 *P. chauhanii* 的野生型品系 (PC-WT), 它由采自印度的天然野生叶状体释放的果孢子萌发长成^[15], 以自由丝状体的形式被保存于实验室内, 保存方法同文献^[17]。本实验使用的培养液由自然海水加富MES培养基配制而成^[18]。

1.2 叶状体培养与生长测量

取一定量的 *P. chauhanii* 自由丝状体, 用小型粉碎机将其切碎, 随后均匀地铺洒于清洗干净的文蛤 (*Meretrix meretrix*) 壳上, 培养条件: 暗光培养3 d后, 光照密度调整为 $20 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期10 L : 14 D, 温度23 °C, 每5 d更换1/2的新鲜培养液。培养2周后, 清洗贝壳表面多余的自由丝状体, 并将光照强度增至 $50 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 其他培养条件不变。待丝状体铺满贝壳表面后, 将培养条件调整为温度29 °C, 光照密度 $10 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期8 L : 16 D。数周后, 挑选已发育成熟的贝壳丝状体, 放入塑

料杯内(250 mL)进行充气培养, 并放入4~6根尼龙单丝供壳孢子附着。待尼龙丝上附着一定数量的壳孢子后, 将它们转移至培养瓶(250 mL)内进行充气培养, 培养条件: 温度23 °C, 光照密度 $50 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期10 L : 14 D。当壳孢子萌发体的长度达1 cm左右, 将它们从尼龙单丝上刮下, 继续充气培养。培养30 d后, 随机取20株叶状体分成几个组进行培养, 每隔5 d测量1次它们的长度和湿重, 同时进行拍照记录, 并更换1/2的培养液。

1.3 叶状体辐照诱变

野生型品系 (PC-WT) 的叶状体培养30 d后, 选择体长约5 cm的健康藻体90株, 分成3组, 每组30株, 进行⁶⁰Co- γ 射线(上海市农业科学院辐照中心提供)辐照处理, 辐照剂量分别设1000、1400和1800 Gy 3组。辐照后的叶状体经黑暗培养24 h后转为正常见光培养, 培养条件: 温度23 °C, 光密度 $50 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期10 L : 14 D。培养4周后, 从每个辐照组中随机选取5株叶状体, 分别统计梢部、中部和基部各20个视野($\times 20$ 倍)内的色素变异细胞块的颜色类型和数量^[1]。

1.4 耐高温品系的筛选

辐照后的叶状体正常培养4周后, 转移至30 °C的培养箱中, 约25 d后, 待叶状体上的大部分细胞因无法适应高温而死去, 然后把培养温度逐渐降至23 °C, 2周后, 用海螺酶酶解处理含有少量存活细胞的叶状体, 获得单离的体细胞, 进行体外再生培养^[19]。3周后, 从单细胞的再生群体中挑选出数株生长较快的个体进行单株培养。当被选中的再生叶状体体长约5 cm时, 用打孔器($\Phi=3 \text{ mm}$)分别从叶片的中部各取10个圆盘体, 同时以PC-WT品系为对照组, 在29 °C下进行充气培养用以观察测试对高温的耐受力, 其他培养条件: 光密度为 $50 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期为10 L : 14 D, 每5 d更换1/2的培养液, 并测量它们的生长情况。培养30 d后, 保留生长良好、无腐烂的圆盘体, 将它们分别进行单株培养, 培养温度为23 °C, 其他培养条件不变。当它们成熟时, 通过单性生殖^[20]分别产生遗传纯合的自由丝状体, 即获得新的选育品系。

1.5 选育品系F₁叶状体的耐高温性测试

壳孢子和壳孢子萌发体的耐高温测试 将各品系刚放散的壳孢子置于培养皿($\Phi=9 \text{ cm}$)内,

23 °C 下静置培养 24 h 后统计每个培养皿单个视野内的壳孢子数($\times 10$ 倍, 20 个视野), 然后将附着的壳孢子分别在 18、23、27 和 29 °C 4 个温度梯度下培养, 光密度为 $40 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期为 10 L : 14 D。每 5 d 更换 1/2 培养液, 每隔 3 d 观察 1 次壳孢子的存活及分裂情况, 培养 1 周后统计壳孢子的假根发生率。

F₁ 叶状体的高温回温忍耐力测试 随机选取各品系在 23 °C 下培养 30 d 的叶状体各 40 株, 每 10 株为 1 组置于培养瓶内进行充气培养, 培养温度分别为 18、23、27 和 29 °C, 每 5 d 更换 1 次培养液, 并测量叶状体的长度。采用下列公式分别计算各品系壳孢子苗在不同温度下的绝对增长率(K_1)和特定增长率(K_2)^[21]:

$$K_1 = (L - L_0) / t$$

$$K_2 = (\ln N - \ln N_0) / t$$

式中, L (cm)、 N (cm) 均为某次测量所得的叶状体长度, L_0 (cm)、 N_0 (cm) 为上一次测量的叶状体长度, t (d) 为培养时间。

1.6 选育品系的特性分析

叶状体活体吸收光谱和色素蛋白含量测定

将在 23 °C 下培养 30 d 的各品系的壳孢子苗再分别培养在 18、23、27 和 29 °C 下, 15 d 后, 测定其活体吸收光谱以及叶绿素 a (*chl. a*)、藻红蛋白 (phycoerythrin, PE) 和藻蓝蛋白 (phycocyanin, PC) 的含量。用分光光度计 (UV-2600, 日本岛津公司) 分别测定叶状体在 350~750 nm 波长范围内的吸光值, 测定方法同文献[22], 根据吸光值用 Origin 8.5 软件再绘制出吸收光谱曲线。叶绿素 a 含量的测定方法同文献[23], 藻红蛋白和藻蓝蛋白含量的测定方法同文献[24]。

叶状体厚度测定 随机选取各品系在 23 °C 下培养 40 d 的叶状体各 5 株, 将其平铺在塑料垫板上, 用双面刀片 (Flying Eagle, 74-C) 分别对梢部、中部和基部进行徒手横切, 在光学显微镜 (Eclipse 90i, Nikon) 下测量藻体横切面的厚度, 每个部位的厚度取 10 个切片的平均数, 并显微拍照记录横切面的结构。

壳孢子放散量测定 将各品系已成熟的贝壳丝状体, 单个放入含 50 mL 培养液的一次性塑料杯中进行充气培养, 培养条件: 温度 23 °C, 光照密度 $50 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期 10 L : 14 D。每个品系设置 3 个平行组。每天中午 12 点后将杯

中的孢子水搅拌均匀后倒入培养皿 ($\Phi=9$ cm) 中, 静置培养 24 h 待壳孢子附着后, 在光学显微镜下统计 20 个视野 ($\times 10$ 倍) 内的壳孢子数量。当壳孢子开始放散后连续计数 20 d 以获得单个贝壳的壳孢子放散总量。壳孢子日放散量计算公式:

$$\text{壳孢子日放散量} = \frac{\left[\pi \times (\text{培养皿的直径}/2)^2 \right]}{\left[\pi \times (10 \times 10 \text{ 倍显微镜的视野直径} \times 10^{-1}/2)^2 \right]} \times \text{每个视野内壳孢子平均数}$$

式中, π 为圆周率, 取值为 3.14; 10×10 倍显微镜的视野直径为 2.2 mm。

1.7 数据处理

采用 Excel 2010 软件对实验数据进行处理, 描述性统计值使用平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD) 表示; 用 SPSS 18.0 的独立样本 t -test 检验组间的差异, 以 0.05 作为差异显著性水平, 以 0.01 作为差异极显著性水平。

2 结果

2.1 色素突变细胞的类型与频率

野生型品系 (*PC-WT*) 的叶状体经不同剂量的 ^{60}Co - γ 射线辐照后, 均出现了少量的死亡细胞。辐照后的叶状体再培养 4 周, 叶片上出现了各种颜色的色素变异细胞块, 在所检查的 900 个视野 ($\times 20$ 倍) 中, 发现了 1205 个色素突变细胞块, 其中数目最多的是浅桔红色, 其次是浅黄褐色, 最少的是红紫色变异细胞块。在 1100~1800 Gy 范围内, 变异细胞块的数量随着辐照剂量的增加而增加, 1800 Gy 组的色素变异细胞块出现频率最高 (表 1), 但各剂量组的色素变异细胞块类型的差异不大。

2.2 耐高温品系的筛选

野生型品系 (*PC-WT*) 的叶状体经辐照后出现了少量死亡细胞, 再经过高温胁迫培养 15 d 后, 又出现了大量的细胞因无法适应高温而死去, 最终仅有少量的细胞存活下来。对由这些细胞长成的叶状体再次进行耐高温培养测试后, 最终筛选出一株能在高温 (29 °C) 下存活且生长优势明显、藻体平整、颜色鲜艳的叶状体。当它长大成熟后产生的丝状体被命名为 *PC-M* 品系。*PC-WT* 和 *PC-M* 品系的叶状体圆盘体在 29 °C 高温下再

表 1 *P. chauhanii* 野生型品系(PC-WT)叶状体经⁶⁰Co-γ射线辐照后培养30 d出现的色素变异细胞块的类型和数量
Tab. 1 The types and numbers of the color-mutated cell-clusters that appeared in the blades of the PC-WT strain in *P. chauhanii* after being irradiated by ⁶⁰Co-γ ray and cultured for 30 days

剂量组/Gy dose	色素变异细胞块的类型和数量/900个视野(×20倍) types and number of the color-mutated cell-clusters/900 fields (×20)												合计/块 total number
	浅桔红 light red orange	浅棕红 light brownish red	暗红 dark red	浅桔黄 light orange	浅黄褐 light tawny	红紫 red purple	紫红 purple red	橄榄绿 olive green	绿色 green	黄绿 yellow green	灰褐 gray brown	浅灰 light gray	
1000	48	19	11	36	50	14	20	18	10	33	26	19	304
1400	66	33	13	38	46	13	22	30	17	40	26	33	377
1800	74	39	25	48	88	8	18	52	28	49	52	43	524
合计/块 total number	188	91	49	122	184	35	60	100	55	122	104	95	1205

培养15 d, *PC-WT*品系的圆盘体颜色明显变浅、生长缓慢,出现了少量的死亡细胞,并开始放散单孢子,逐渐形成空洞(图版I-a, b, c),当培养至第20天时,圆盘体的大部分藻体已经随着大量的单孢子释放而解体,同时部分细胞也死去。而在相同高温条件下培养15 d的*PC-M*品系圆盘体,其颜色鲜艳、有光泽、叶状体面积远大于*PC-WT*品系的圆盘体,没有出现死亡细胞和单孢子放散(图版I-d, e, f)。

2.3 壳孢子以及萌发体的耐高温性

18和23 °C组的*PC-M*与*PC-WT*品系的壳孢子,其存活率、分裂率及假根发生率均无显著性差异($P>0.05$);但在27 °C组,*PC-M*品系的壳孢子的存活率、分裂率及假根发生率分别比*PC-WT*品系提高了250.7%、42.4%和86.6%,在29 °C组,则分别提高了305.4%、67.1%和175.3%,与*PC-WT*品系相比,各值均呈极显著性差异($P<0.01$,表2)。

培养1周的*PC-WT*品系,18和23 °C组的壳孢子萌发体颜色鲜艳,形状规则,细胞排列有序平整,星状色素体清晰可见;但27 °C组的壳孢子萌发体的颜色变淡,色素体收缩,细胞分裂速率减慢,细胞排列不规则,假根细胞发育不良,长度短;29 °C组的壳孢子萌发体的细胞颜色更淡,色素体呈弥散状,细胞分裂速率进一步减慢,假根细胞的发育不正常(图版II-1~4)。在各温度下培养1周的*PC-M*品系的壳孢子萌发体的生长均优于*PC-WT*品系(图版II-5~8),27和29 °C组的壳孢子萌发体颜色也稍变淡,但未出现细胞死亡和色素体浓缩或呈弥散现象,苗的形状规则,细胞排列均匀,假根萌发正常,对高温的忍耐性较好。培养2周后,18和23 °C组的*PC-*

*WT*品系的壳孢子萌发体依然颜色鲜艳,形状规则,细胞排列有序,星状色素体清晰可见(图版II-9~10);27 °C组的*PC-WT*壳孢子萌发体颜色变淡,细胞排列不均匀、分裂速率减慢,苗的形状出现畸形(图版II-11);29 °C组壳孢子萌发体颜色进一步变淡,细胞分裂速率进一步减慢,萌发体的外形变成畸形(图版II-12)。培养2周后,各温度组的*PC-M*品系壳孢子萌发体,其生长速率均明显优于*PC-WT*品系(图版II-13~16),虽然27和29 °C组的壳孢子萌发体的颜色也稍发黄,细胞分裂速率减慢,但细胞排列规则有序,苗的形状正常。

2.4 F₁叶状体的耐高温性

在各温度组中,*PC-M*品系的叶状体生长均明显优于*PC-WT*品系,18、23、27和29 °C组的叶状体平均体长分别为137.7、162.7、85.6和38.8 cm,其中23 °C组的生长最快(表3)。*PC-WT*品系具有放散单孢子的特性,培养5 d后,各温度组均出现单孢子放散,且培养温度越高,单孢子开始放散的时间越早,放散量越多;18 °C组的叶状体培养至20 d,大部分藻体仍然完整,但梢部因单孢子放散而变成方形(图版I-2);23 °C组的叶状体培养15 d左右就开始放散大量的单孢子,最终藻体的中上部细胞基本上全部被放散(图版I-3);27和29 °C组的叶状体在10 d左右即大量放散单孢子,最终只剩下假根以上的基部藻体(图版I-4, 5),故无法获得其准确的生长数据。在各温度组中,*PC-M*品系的绝对最大生长率均比*PC-WT*品系高;在18和23 °C组中,*PC-WT*品系的绝对最大生长率出现在培养的35~40 d,分别为0.8和1.0 cm/d,而*PC-M*品系的绝对最大生长率则出现在培养的45~50 d,分别为7.0和7.1 cm/d,分别为*PC-WT*品系的8.8和7.1倍(表4);在27和29 °C高温组中,

表 2 在不同温度下培养的*P. chauhunii*的*PC-WT*和*PC-M*品系的壳孢子存活率(培养2周)、分裂率(培养2周)和假根发生率(培养1周)

Tab. 2 The rates of survival, division and rhizoid germination of conchospores of the *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhunii* after being cultured at different temperature for 2, 2 and 1 weeks, respectively %

培养温度/°C culture temperature	<i>PC-WT</i>			<i>PC-M</i>		
	存活率 survival rates	分裂率 division rates	苗假根发生率 rhizoid germination rates	存活率 survival rates	分裂率 division rates	苗假根发生率 rhizoid germination rates
18	88.6±2.7	100	79.0±5.3	89.1±4.1	100	88.6±4.5
23	89.7±2.3	100	84.2±9.4	89.4±4.9	100	84.8±1.1
27	20.9±2.1	69.4±2.4	38.7±1.6	73.3±3.3**	98.8±2.9*	72.2±9.4*
29	16.7±0.2	54.7±2.7	18.2±5.2	67.7±2.7**	91.4±2.1**	50.1±8.6**

注: *.差异显著($P<0.05$); **.差异极显著($P<0.05$)。下同
Notes: *. significant difference ($P<0.05$); **. highly significant difference ($P<0.01$). The same below

表 3 在23 °C下培养30 d的*P. chauhunii* 2个品系的F₁叶状体再在不同温度下培养30 d的平均体长比较

Tab. 3 Mean length of the 30-day-old (at 23 °C) F₁ gametophytic blades of *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhunii* after being cultured at different temperature for another 30 days cm

培养天数/d culture days	<i>PC-WT</i>				<i>PC-M</i>			
	18 °C	23 °C	27 °C	29 °C	18 °C	23 °C	27 °C	29 °C
30	2.2±0.1	2.3±0.2	2.3±0.1	2.3±0.1	7.1±0.3**	7.1±0.3**	7.1±0.3**	7.1±0.2**
35	4.6±0.3	4.4±0.7	3.7±0.5	3.6±0.6	18.5±0.6**	20.5±0.7**	12.2±0.3**	11.2±0.5**
40	8.6±0.7	9.4±0.7	4.2±0.7	0.7±0.1	39.6±1.9**	44.6±2.1**	21.3±1.9**	18.4±0.6**
45	10.7±0.9	13.5±0.8	3.2±0.3		61.3±2.3**	71.1±4.5**	37.5±2.3**	25.3±1.8
50	12.8±0.1	4.5±0.7			96.2±3.6**	106.2±5.4**	53.2±3.6	30.6±2.2
55	13.6±0.7	3.6±0.2			120.4±5.1**	137.4±5.9**	73.5±5.1	35.5±3.1
60	10.0±0.5	2.8±0.1			137.7±7.1**	162.7±6.3**	85.6±5.6	38.8±2.7

*PC-WT*品系的绝对生长率分别在培养的40~45 d和35~40 d就出现了负数, 而*PC-M*品系叶状体的生长速率虽有所减慢, 但仍然维持较高的绝对生长率, 且27 °C组的藻体颜色鲜艳, 有光泽, 韧性好, 29 °C组的叶状体颜色加深, 未出现腐烂(图版I-8, 9)。在各温度组中, *PC-WT*品系的特定生长率出现了与绝对生长率类似的变化趋势, *PC-M*品系的特定生长率均比*PC-WT*品系高很多, 且随着培养温度的提高和培养时间的延长而降低。

2.5 叶状体的活体吸收光谱与主要光合色素含量

*PC-WT*和*PC-M*品系的叶状体在23 °C培养30 d后再转入18、23、27和29 °C下继续培养15 d, 各品系的叶状体活体吸收光谱在波长350~750 nm均出现5个明显的吸收高峰(图1), 各吸收峰的峰

值均随着培养温度的升高而上升, 尤其是高温组(27和29 °C)的各吸收峰的峰值有很明显的增加, 但各峰值所处的波长不变。29 °C组的*PC-WT*品系因放散单孢子而使藻体解体, 未测得活体吸收光谱。

*PC-WT*和*PC-M*品系的藻红蛋白和藻蓝蛋白含量均随着温度的升高而增加, 其变化趋势与活体吸收光谱的变化基本一致(表5)。29 °C组的*PC-M*品系的叶绿素*a*含量略低于27 °C组。29 °C组的*PC-WT*品系因放散单孢子而使藻体解体, 未测得数据。在18、23和27 °C组中, *PC-M*品系的叶绿素*a*含量分别为*PC-WT*品系的1.4、1.4和1.2倍, 总藻胆蛋白(藻红蛋白和藻蓝蛋白之和)含量分别是*PC-WT*品系的2.5、2.7和2.9倍, 差异极显著($P<0.01$), 这一结果说明随着培养温度的提

表 4 在 23 °C 下培养 30 d 的 *P. chauhanii* 2 个品系的 F₁ 叶状体再在不同温度下培养 30 d 的生长率比较
Tab. 4 Growth rates of the 30-days-old (at 23 °C) F₁ gametophytic blades of *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhanii* after being cultured at different temperature for another 30 days

生长率 growth rates	培养天数/d culture days	<i>PC-WT</i>				<i>PC-M</i>			
		18 °C	23 °C	27 °C	29 °C	18 °C	23 °C	27 °C	29 °C
绝对生长率/(cm/d) absolute growth rate	30~35	0.5	0.4	0.3	0.3	2.3	2.7	1.0	0.8
	35~40	0.8	1.0	0.1	-0.6	4.2	4.8	1.8	1.4
	40~45	0.4	0.8	-0.2		4.3	5.3	3.2	1.4
	45~50	0.4	-1.8			7.0	7.1	3.1	1.0
	50~55	-0.2	-0.2			4.8	6.2	4.1	0.9
	55~60	-0.5	-0.2			3.5	5.1	2.4	0.8
特定生长率/(%/d) specific growth rate	30~35	14.2	13.0	9.9	9.5	19.2	21.2	10.8	9.3
	35~40	12.7	15.3	2.7	-31.7	15.2	15.5	11.1	9.5
	40~45	4.3	7.3	-5.6		8.7	9.4	11.3	6.7
	45~50	3.6	-21.9			9.1	8.0	7.0	3.7
	50~55	-1.2	-4.7			4.5	5.2	6.5	2.8
	55~60	-4.3	-4.9			2.7	3.4	3.0	2.2

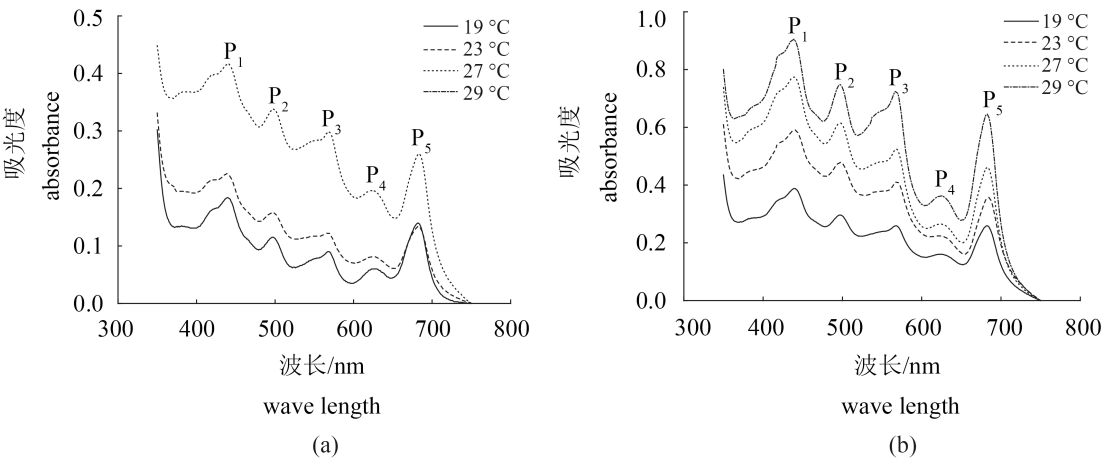


图 1 日龄为 30 d 的 *P. chauhanii* *PC-WT*(a)和 *PC-M*(b)品系的叶状体再在不同温度下培养 15 d 的活体吸收光谱比较
Fig. 1 *In vivo* absorption spectra of the 30-day-old F₁ gametophytic blades (at 23 °C) of the *PC-WT*(a) and *PC-M*(b) strains in *P. chauhanii* after being cultured at different temperature for another 15 days

升，2 个品系间的 3 种主要光合色素含量的差异越来越大。

2.6 叶状体的厚度

*PC-WT*和*PC-M*品系的叶状体不同部位的厚度各不相同，均表现为基部>中部>梢部，*PC-WT*和*PC-M*品系叶状体的平均厚度分别为 33.2 和 22.7 μm，*PC-M*比*PC-WT*品系的厚度减少了 31.6%，差异极显著($P<0.01$)，*PC-WT*品系的基部

厚度与其他 2 个部位的差异较大，而*PC-M*品系不同部位间的厚度差异不大(表 6)。

2.7 壳孢子放散量

从壳孢子开始放散起连续统计 20 d，*PC-WT*和*PC-M*品系均可持续放散壳孢子，且均出现 3~4 个放散高峰，*PC-WT*和*PC-M*品系的壳孢子放散总量分别为 183.5 万个/贝和 250.8 万个/贝，*PC-M*品系的壳孢子放散量是*PC-WT*品系的 1.4 倍，差

表 5 在 23 °C 下培养 30 d 的 *P. chauhaniai* 2 个品系的 F₁ 叶状体再在不同温度下培养 15 d 的主要光合色素含量比较
Tab. 5 Contents of major photosynthetic pigments of the 30-day-old F₁ gametophytic blades (at 23 °C) of the *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhaniai* cultured at different temperature for another 15 days

培养温度/°C culture temperature	<i>PC-WT</i>				<i>PC-M</i>			
	叶绿素 <i>a</i> / (mg/g) <i>chl. a</i>	藻红蛋白/ (mg/g) PE	藻蓝蛋白/ (mg/g) PC	总藻胆蛋白/(mg/g) phycobiliprotein	叶绿素 <i>a</i> / (mg/g) <i>chl. a</i>	藻红蛋白 / (mg/g) PE	藻蓝蛋白/ (mg/g) PC	总藻胆蛋白/(mg/g) phycobiliprotein
18	5.6±0.2	27.7±1.5	14.2±0.3	41.9	8.1±0.3**	78.3±2.3**	25.1±1.4*	103.4
23	6.6±0.3	28.5±1.6	15.3±0.9	43.8	9.2±0.2**	88.3±5.7**	29.8±1.7*	118.1
27	8.6±0.3	39.9±2.4	18.7±1.3	48.5	10.2±0.2*	103.9±3.2**	36.7±1.0*	140.6
29					9.5±0.2	112.7±2.3	40.2±0.6	152.9

表 6 *P. chauhaniai* 2 个品系的 F₁ 叶状体 (日龄 40 d) 的不同部位厚度比较
Tab. 6 Thickness of different parts of F₁ gametophytic blades of *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhaniai* after being cultured at 23 °C for 40 days

品系 strains	叶状体不同部位的厚度 mean thickness of different parts of the blades			平均厚度 mean thickness
	梢部 apical	中部 middle	基部 basal	
<i>PC-WT</i>	31.1±0.4	32.6±0.7	35.8±0.9	33.2±2.8
<i>PC-M</i>	21.3±0.4**	23.1±0.4**	23.8±0.6**	22.7±1.3**

异极显著 ($P<0.01$, 图 2)。

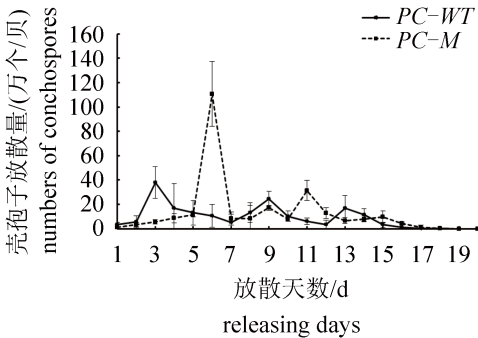


图 2 *P. chauhaniai* 两个品系的贝壳丝状体连续 20 d 的壳孢子放散量比较
Fig. 2 The numbers and releasing peaks of conchospores of *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhaniai* during 20 days of conchospore releasing

3 讨论

人工诱变是紫菜新品种选育的有效工具之一, 我国选育出来的 4 个坛紫菜新品种和 2 个条斑紫菜新品种中, 5 个是通过 ⁶⁰Co-γ 射线辐照诱变后选育出的 [8-9, 25], 本研究结果也证实 ⁶⁰Co-γ 射线辐照 *P. chauhaniai* 叶状体, 其诱变效果非常有效。在 ⁶⁰Co-γ 射线辐照处理过的 *P. chauhaniai* 野生型叶状体中出现的色素变异细胞块的类型与坛紫菜和

条斑紫菜经 ⁶⁰Co-γ 射线辐照处理后得到的结果类似, 也是红色系列的变异细胞占多数, 绿色系列的变异细胞占少数 [1, 26]。

条斑紫菜的壳孢子萌发体生长到一定日龄, 一般 3~4 周就会释放一定数量的单孢子, 直接萌发成叶状体, 形成所谓的次生苗, 生产上利用此特点来增加栽培网帘上的附苗量, 以节省来自贝壳丝状体的壳孢子附苗量 [27]; 同时, 有研究也指出可以利用单孢子放散的特点进行条斑紫菜的二次附网采苗和栽培 [28]。 *P. chauhaniai* 野生型品系的壳孢子萌发体同样也可以放散单孢子, 但放散量太大往往导致叶状体的大部分藻体解体, 叶状体无法长大, 而且由单孢子长成的次生叶状体也同样能大量释放单孢子, 这种现象与大量放散单孢子的条斑紫菜人工色素突变体很类似 [29]。此外, 本研究发现培养温度对 *P. chauhaniai* 野生型品系的叶状体放散单孢子有很大的影响, 在 18~29 °C 范围内, 随着温度的提高, *PC-WT* 品系的单孢子放散时间变早, 放散量也显著增加, 27 °C 以上的温度会引起叶状体大量释放单孢子, 造成大部分的藻体解体, 只留下面积很小的基部藻体。而本研究选育出来的 *PC-M* 品系其叶状体不论在低温 (18 °C) 还是高温 (27 °C 以上) 下培养均不放散单孢子, 暗示与单孢子释放相关的基

因发生了变异,而在条斑紫菜中原本不太放散的野生型叶状体经人工诱变获得的某些色素突变体可以大量地释放单孢子^[29],对比这2种相反的研究结果,在紫菜叶状体中与单孢子释放相关的基因就像自来水的开关一样可以被关闭或开放,也暗示可以获得单孢子释放量适宜的突变体,但本研究获得的*PC-M*品系失去了放散单孢子的能力。

根据本研究结果,*PC-WT*品系的壳孢子和壳孢子萌发体并不耐高温,而*PC-M*品系却耐高温。如表2所示,壳孢子放散后培养2周,2个常温组(18和23℃)的壳孢子存活率,*PC-WT*品系分别为88.6%和89.7%,*PC-M*品系分别为89.1%和89.4%,品系间的差异不显著;而2个高温组(27和29℃)的壳孢子存活率,*PC-WT*品系分别降至20.9%和16.7%,*PC-M*品系分别只降至73.3%和67.7%,2个品系间的差异极显著。此外,2个品系的壳孢子分裂率在2个常温组中的差异也不显著,但在2个高温组中的差异却极显著。从壳孢子的存活率和分裂率两方面的结果来看,*PC-M*品系远比*PC-WT*品系耐高温。

紫菜壳孢子在萌发过程中,除了能够存活和分裂外,能否形成假根也是至关重要的,在自然界,这决定了壳孢子萌发体能否牢固地附着在基质上长成大叶状体,而在生产上这就直接影响着栽培网帘上的苗密度和产量。紫菜叶状体的假根来源于壳孢子第一次减数分裂产生2个极性细胞中的下位细胞,假根的正常发生才能确保壳孢子萌发体牢固地附着,长成的藻体不被水流冲走^[30]。本实验的结果表明,高温会显著地抑制紫菜壳孢子萌发体的假根形成。在2个常温组中,*PC-WT*和*PC-M*品系的假根发生率无显著性差异,但2个高温组的假根发生率,*PC-WT*品系分别为38.7%和18.2%,而*PC-M*品系分别为72.2%和50.1%,2个品系间的差异极显著,这也说明*PC-M*品系是比较耐高温的。

在23℃培养30 d的*PC-WT*品系叶状体在高温组(27和29℃)再培养10 d,放散了大量单孢子,培养20 d后,藻体只剩基部,但在培养瓶的瓶壁上只出现了少量的单孢子萌发体附着,而在2个常温组(18和23℃)的培养瓶瓶壁上出现了大量的单孢子苗附壁,这说明*PC-WT*品系的单孢子也不耐高温。

在23℃培养30 d的*PC-M*品系的叶状体在高

温(27和29℃)下能持续生长,虽然生长速率比常温组有较大幅度的降低,但藻体的颜色鲜艳,未出现腐烂,说明*PC-M*品系的叶状体对温度的回升有较好的忍受能力。这个结果与坛紫菜耐高温品系的叶状体对高温回温的忍耐性表现^[31]基本一致,也就是说*PC-M*品系可以耐受坛紫菜耐高温品系可以忍受的极限高温(29℃)。

紫菜叶状体中的主要光合色素有叶绿素*a*、藻红蛋白和藻蓝蛋白,它们的含量及相互间的比值决定了藻体的颜色并影响着加工制品的品质^[22]。在本实验中,各温度组的*PC-M*品系的3种主要光合色素含量及生长速率均显著高于*PC-WT*品系,说明在相同的培养条件下,光合色素的含量高则生长速率快,这个结果与坛紫菜的优良品系(种)的3种主要光合色素含量均明显高于野生型品系、生长速率也明显加快^[8,31]的报道是一致的。此外,随着培养温度的升高,2个品系的3种光合色素含量也逐渐升高,*PC-M*品系的光合色素增加幅度明显大于*PC-WT*品系,而生长速率的降幅明显低于*PC-WT*品系,这一结果与坛紫菜和条斑紫菜的耐高温品系在高温条件下3种主要光合色素含量显著提高的结果^[31-32]是一致的。高温胁迫条件下的光合色素大量合成,可能为紫菜叶状体适应高温提供了帮助,但具体机理仍有待进一步研究。

对于一个紫菜栽培品种来说,壳孢子的放散量和藻体厚度是十分重要的2个性状,二者直接影响着品种能否被生产者接受使用以及紫菜的质量。*PC-M*品系的单个贝壳丝状体在连续20 d内的壳孢子放散总量可达250.8万个,最大的壳孢子日放散量达到110.7万个,与*PC-WT*品系的最大日壳孢子放散量38.0万个相比提高了191.3%;与坛紫菜野生栽培种的单日壳孢子放散量40.5万个相比提高了173.3%^[8],说明*PC-M*的壳孢子放散量完全可以满足生产需求。另外,作为栽培紫菜候选种,其叶状体的厚度也是一个重要生物学和经济学性状,藻体太厚不利于采用全自动机械化加工,产品的附加值较低。本实验选育的*PC-M*品系的叶状体平均厚度仅为22.7 μm,是野生型条斑紫菜厚度的75.6%^[33],适合被全机械化加工成为高品质的紫菜产品。

综上所述,与*PC-WT*相比,*PC-M*品系在高温耐受性、生长速率、主要光合色素含量、叶状体厚度、单孢子放散以及壳孢子放散量等方

面均有明显的改善。另外, 它的藻体厚度与条斑紫菜相当, 但可忍耐的上限温度与坛紫菜耐高温优良品系相当, 有望被培育成适合南方高温地区栽培的优良品种。

参考文献:

- [1] 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.
Yan X H, Liang Z Q, Song W L, *et al.* Induction and isolation of artificial pigmentation mutants in *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(2): 166-172 (in Chinese).
- [2] 董宏坡, 左正宏, 王重刚, 等. 福建省平潭海区坛紫菜品质性状的分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(5): 693-696.
Dong H P, Zuo Z H, Wang C G, *et al.* Analysis of character of *Porphyra haitanensis* from sea area of Pingtan county in Fujian province [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2004, 43(5): 693-696 (in Chinese).
- [3] 张卫兵, 徐加达, 端木怡燕, 等. 日韩两国紫菜产业分析及启示[J]. 食品科技, 2005(10): 9-12.
Zhang W B, Xu J D, Duanmu Y Y, *et al.* Analysis of laver industry in Japan and South Korean [J]. Food Science and Technology, 2005(10): 9-12 (in Chinese).
- [4] Yarish C, Chopin T, Wilkes R, *et al.* Domestication of nori for northeast America: the Asian experience [J]. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada, 1999(1): 11-17.
- [5] 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: 1-58.
Ma J H, Cai S Q. Cultivation and processing of *Porphyra yezoensis* [M]. Beijing: Science Press, 1996: 1-58 (in Chinese).
- [6] 梁艳, 徐燕, 陈昌生, 等. 坛紫菜优质新品系(Q-1)主要经济性状的研究[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(4): 108-116.
Liang Y, Xu Y, Chen C S, *et al.* Research on the main economic traits of the new strain of high quality *Porphyra haitanensis* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(4): 108-116 (in Chinese).
- [7] 王奇欣. 福建省坛紫菜加工产业化发展思路[J]. 福建水产, 2005(2): 71-73.
Wang Q X. Development trend of the processing industry of *Porphyra haitanensis* in Fujian province [J]. Journal of Fujian Fisheries, 2005(2): 71-73 (in Chinese).
- [8] 王长青, 严兴洪, 黄林彬, 等. 坛紫菜优良品系“申福2号”的特性分析与海区中试[J]. 水产学报, 2011, 35(11): 1658-1667.
Wang C Q, Yan X H, Huang L B, *et al.* Characterization of an improved strain (SF-2) of *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) and its pilot cultivation in mariculture farm [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(11): 1658-1667 (in Chinese).
- [9] 宋武林. 坛紫菜优良品系“申福1号”苗种培育技术研究[J]. 南方水产, 2006, 2(4): 19-23.
Song W L. A research on the technique of conchosporelings about the premium strain of “Shenfu No. 1” *Porphyra haitanensis* [J]. South China Fisheries Science, 2006, 2(4): 19-23 (in Chinese).
- [10] 陈昌生, 梁艳, 徐燕, 等. 坛紫菜薄叶新品系选育及经济性状的比较[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(2): 100-105.
Chen C S, Liang Y, Xu Y, *et al.* Selective breeding and comparison of economic traits of the new thin-thallus strain *Porphyra haitanensis* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(2): 100-105 (in Chinese).
- [11] 蔡培贤, 邱其樱, 杨以勋, 等. 条斑紫菜南移福建养殖的研究[J]. 海洋水产研究, 1989(10): 78-84.
Cai P X, Qiu Q Y, Yang Y X, *et al.* Study on the seafarming of *Porphyra yezoensis* Ueda transplanting to Fujian [J]. Marine Fisheries Research, 1989(10): 78-84 (in Chinese).
- [12] 方跃, 张万良, 吴建义. 浅谈条斑紫菜南移浙江养殖的几个问题[J]. 中国水产, 1995(2): 32.
Fang Y, Zhang W L, Wu J Y. Several problems on the seafarming of *Porphyra yezoensis* Ueda transplantion to Zhejiang [J]. China Fisheries, 1995(2): 32 (in Chinese).
- [13] Murray J A. The Plants and Drugs of Sind [M]. London: Richardson & Co, 1881: 219.
- [14] Kumar C A, Panikkar M V N. Indian species of *Porphyra* (Rhodophyceae, Bangiales) [J]. Feddes Repertorium, 1997, 108(5-6): 419-423.
- [15] 张岩岩. 两种印度产紫菜的室内培养与生活史观察[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013: 25-39.
Zhang Y Y. Indoor cultivation and a part life-cycle of two species of *Pyropia* from India [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013: 25-39 (in Chinese).
- [16] 张聪, 严兴洪. *Pyropia churharui*新品系的分离与特性分析[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1457-1465.
Zhang C, Yan X H. Isolation and characterization of new

- strains of *Pyropia churharii* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1457-1465 (in Chinese).
- [17] 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).
- [18] 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[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).
- [19] Yan X H, Wang S J. Studies on development and differentiation of somatic cells in *Porphyra* spp. [J]. Marine Science, 1990, 2(3): 195-208.
- [20] 严兴洪, 李琳, 陈俊华, 等. 坛紫菜的单性生殖与遗传纯系分离[J]. 高技术通讯, 2007, 17(2): 205-210.
- Yan X H, Li L, Chen J H, et al. Parthenogenesis and isolation of genetic pure strains in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Chinese High Technology Letters, 2007, 17(2): 205-210 (in Chinese).
- [21] Stein J R. Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements [M]. London: Cambridge University Press, 1973: 289-311.
- [22] Aruga Y, Miura A. *In vivo* absorption spectra and pigment contents of the two types of color mutants of *Porphyra* [J]. Journal of Phycology of Japan, 1984, 32: 243-250.
- [23] Yan X H, Aruga Y. Induction of pigmentation mutants by treatment of monospore germlings with MNNG in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Algae, 1997, 12(1): 39-52.
- [24] 高洪峰. 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化[J]. 海洋与湖沼, 1993, 24(6): 645-648.
- Gao H F. The variation in the contents of phycobiliproteins from *Porphyra haitanensis* collected in different growing stages [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1993, 24(6): 645-648 (in Chinese).
- [25] 全国水产技术推广总站. 2014年水产新品种推广指南[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014: 150-155.
- Technology of Countrywide Aquatic Product Popularized Terminal. Guide for new varieties of aquatic products in 2014 [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2014: 150-155 (in Chinese).
- [26] 严兴洪, 张淑娟, 黄林彬. ^{60}Co - γ 射线对条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)的诱变效果与色素突变体分离[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(1): 56-61.
- Yan X H, Zhang S J, Huang L B. Induction and isolation of pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) by ^{60}Co - γ ray irradiation [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(1): 56-61 (in Chinese).
- [27] 梅俊学, 费修纆, 王斌. 条斑紫菜单孢子的研究[J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(4): 402-407.
- Mei J X, Fei X G, Wang B. Study on monospore production of *Porphyra yezoensis* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2001, 32(4): 402-407 (in Chinese).
- [28] 李世英, 崔广法. 条斑紫菜单孢子和壳孢子幼苗生长发育的初步观察[J]. 海洋与湖沼, 1980, 11(4): 370-374.
- Li S Y, Cui G F. An observation on the growth and development of sporelings from concho-spores and monospores of *Porphyra yezoensis* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1980, 11(4): 370-374 (in Chinese).
- [29] Yan X H, Fujita Y, Aruga Y. High monospore-producing mutants obtained by treatment with MNNG in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Hydrobiologia, 2004, 512(1-3): 133-140.
- [30] 曾呈奎, 王素娟, 刘思俭. 海藻栽培学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 184-185.
- Tseng C K, Wang S J, Liu S J. Seaweed Cultivation [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1985: 184-185 (in Chinese).
- [31] Yan X H, Lv F, Liu C J, et al. Selection and characterization of a high-temperature tolerant strain of *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Applied Phycology, 2010, 22(4): 511-516.
- [32] Zhang B L, Yan X H, Huang L B. Evaluation of an improved strain of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) with high-temperature tolerance [J]. Journal of Applied Phycology, 2011, 23(5): 841-847.
- [33] 黄文, 吕峰, 严兴洪. 条斑紫菜耐高温品系的特性分析与海区中试[J]. 水产学报, 2014, 38(10): 1758-1769.
- Huang W, LÜ F, Yan X H. Characterization of a high-temperature resistant strain of *Pyropia yezoensis* and its pilot cultivation in mariculture farm [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(10): 1758-1769 (in Chinese).

Selection and characterization of an improved strain of *Pyropia chauhanii* (Bangiales, Rhodophyta)

CHEN Shasha¹, DING Hongchang¹, YAN Xinghong^{1,2*}

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

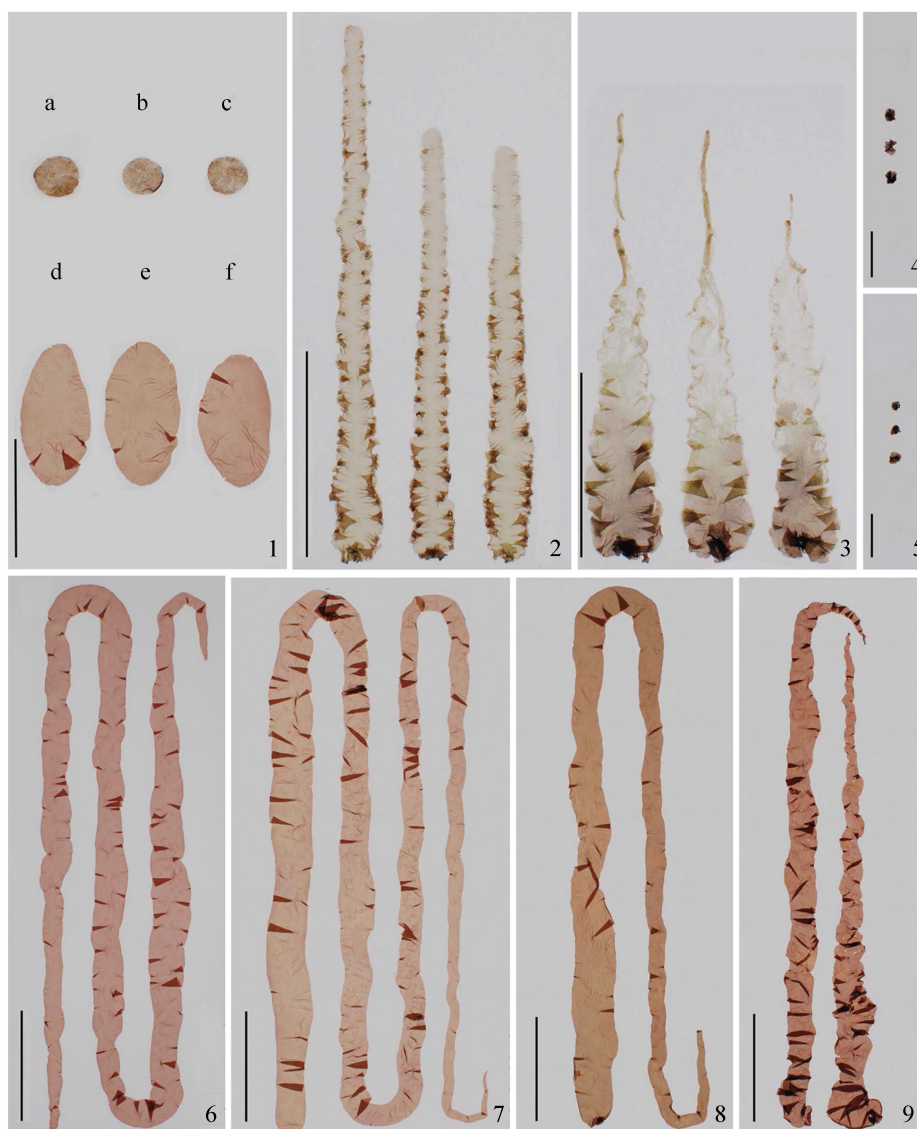
2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to develop a new variety of *Pyropia* with thin blade, which is suitable for cultivation in the aquaculture areas with high temperature along the coast of South China, the blades of the wild-type strain (*PC-WT*) of *Pyropia chauhanii* were irradiated with ⁶⁰Co-γ rays and cultured at a high temperature (30 °C) for 25 days, and then the improved strain of *PC-M* was obtained. Subsequently, *PC-M* was compared with *PC-WT* for high-temperature resistance, growth, contents of major photosynthetic pigments, the releasing ability of monospores and conchospores. The results showed that the rates of survival, division and rhizoid germination of conchospores were not significantly different between *PC-M* and *PC-WT* at 18 and 23 °C, but the survival rates were 250.7% and 305.4% higher, the division rates were 42.4% and 67.1% higher, the rhizoid germination rates were 86.6% and 175.3% higher in the former than those in the latter at 27 and 29 °C, respectively. The F₁ gametophytic blades of *PC-M* and *PC-WT* were cultured at 23 °C for 30 days and then cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for another 10 days, in the group of 18, 23 and 27 °C, the absolute growth rates of *PC-M* blades were 5.1, 5.3 and 7.5 times those of *PC-WT*, and the specific growth rates were 1.3, 1.3 and 1.8 times those of *PC-WT*, respectively. The apical and middle parts of *PC-WT* blades were disintegrated because of releasing a large number of monospores after being cultured for 15 days at 27 °C and 10 days at 29 °C, and only the basal parts of the blades remained intact. On the other hand, *PC-M* blades grew rapidly with normal color and shape without releasing monospores, just slightly curled after being cultured for 30 days. In addition, the contents of three major photosynthetic pigments (*chl. a*, PE and PC) and the conchospore numbers in *PC-M* at a suitable temperature (23 °C) were 39.4%, 209.8%, 94.8% and 36.7% higher than those of *PC-WT*, respectively. Meanwhile, the thickness of blades of *PC-M* was 31.6% thinner than that of *PC-WT*. The above results indicated that *PC-M* has thinner blade, higher contents of the major photosynthetic pigments, faster growth speed, higher-temperature resistance, larger number of conchospore release and no monospore release as compared with *PC-WT*. It is therefore potential to be developed into a new variety suitable for cultivation along the coast of South China.

Key words: *Pyropia chauhanii*; ⁶⁰Co-γ ray; improved strain; gametophytic blades; conchospores; high-temperature resistance

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

Funding projects: National High Technology Research & Development Program of China (“863” Program) (2012AA10A411); National Natural Science Foundation of China (31072208); State Oceanic Administration of China (201105008, 201105023); National Agricultural Science and Technology Achievements Transformation Project (2013GB2C220537); Ministry of Agriculture of China (200903030); Shanghai Committee Key Scientific Research Project (10391901100); Shanghai Universities First-Class Disciplines Project of Fisheries, Science and Technology Commission of Fujian Province (2011NZ0001-1); Special Fund of Fujian Provincial Governor (2014S1477-10)

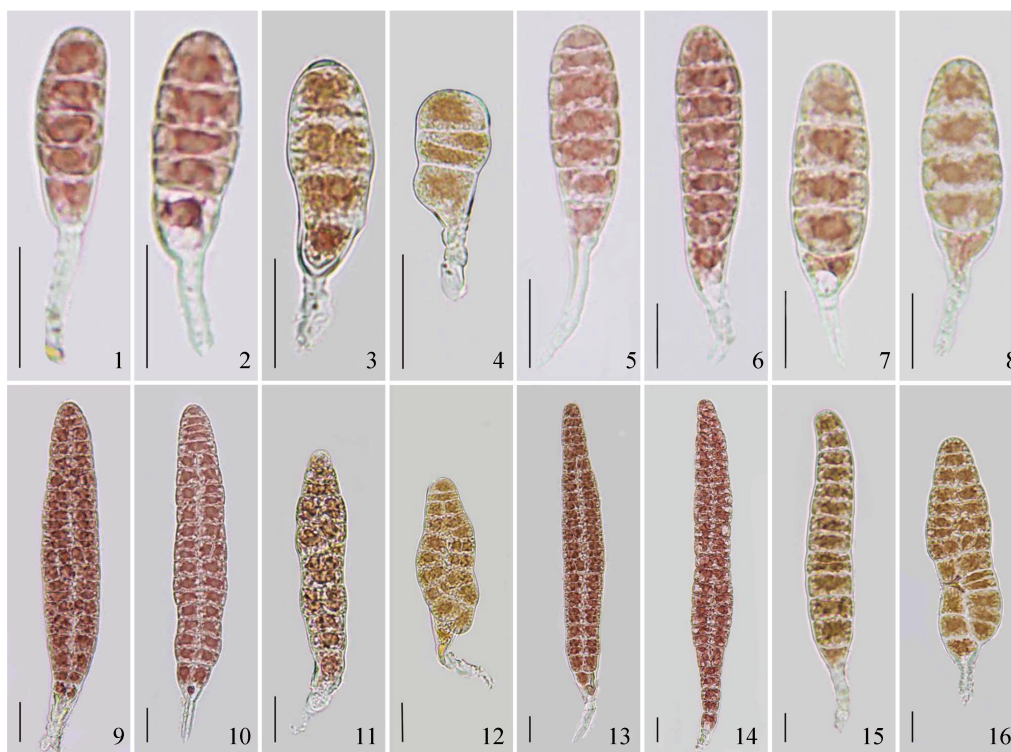


图版 I *P. chauhanii* 两个品系的圆盘体在29 °C下培养15 d以及它们的F₁叶状体(日龄30 d)再在不同温度下培养20 d的生长比较

1. 29 °C下培养15 d的圆盘体生长情况: a-c. *PC-WT*品系, d-f. *PC-M*品系; 2-5和6-9. *PC-WT*和*PC-M*品系的F₁叶状体(日龄30 d)再分别在18、23、27和29 °C下培养20 d的生长情况。图1, 4, 5中标尺均表示2 cm, 图2-3, 6-9中标尺均表示5 cm

Plate I The blade disks of the blade of *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhanii* after being cultured at 29 °C for 15 days and the 30-day-old (cultured at 23 °C) F₁ gametophytic blades of the *PC-WT* and *PC-M* strains after being cultured for another 20 days at 18, 23, 27 and 29 °C, respectively

1. the blade disks cultured at 29 °C for 15 days: a-c. *PC-WT*, d-f. *PC-M*; 2-5. the 30-day-old (cultured at 23 °C) F₁ gametophytic blades of *PC-WT* strain cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for another 20 days; 6-9. the 30-day-old (cultured at 23 °C) F₁ gametophytic blades of *PC-M* strain cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for another 20 days, respectively. Scale bars: 2 cm in 1, 4, 5; 5 cm in 2-3, 6-9



图版 II 在18、23、27和29 °C下培养1周和2周的 *P. chauhani* 的 *PC-WT* 和 *PC-M* 品系的壳孢子萌发体

1~4和5~8. *PC-WT* 和 *PC-M* 品系的壳孢子在18、23、27和29 °C下培养1周的萌发体生长情况；9~12和13~16. *PC-WT* 和 *PC-M* 品系的壳孢子
在18、23、27和29 °C下培养2周的萌发体生长情况。图中标尺均表示25 μm

**Plate II The conchospore germlings of *PC-WT* and *PC-M* strains in *P. chauhani* after being
cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for one week and two weeks, respectively**

1-4. conchospore germlings of *PC-WT* strain cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for 1 week, respectively; 5-8. conchospore germlings of *PC-M* strain
cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for 1 week, respectively; 9-12. conchospore germlings of *PC-WT* strain cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for 2 weeks,
respectively; 13-16. conchospore germlings of *PC-M* strain cultured at 18, 23, 27 and 29 °C for 2 weeks, respectively. Scale bars: 25 μm