

条斑紫菜耐高温品系的特性分析与海区中试

黄 文¹, 吕 峰², 严兴洪^{1,3*}

(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. 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: 通过室内培养和海区栽培实验验证条斑紫菜耐高温品系(*T-17*)优良性状的稳定性和栽培适用性。结果显示,与野生型品系(*WT*)相比,*T-17*品系的叶状体,在生长率、最大光化学效率、主要光合色素含量、藻体厚度和产量等方面均存在明显的优势。将在18℃下培养50 d的小苗再在18、22和24℃下培养35 d,*T-17*的绝对生长率分别为*WT*的17.71、15.81和33.00倍,特定生长率分别为*WT*的4.59、4.38和9.15倍,最大光化学效率分别为*WT*的1.17、1.29和1.58倍。*WT*的小苗在22、24和25℃下再分别培养25、15和10 d,叶片的颜色就转深变黑,藻体卷曲变硬,出现腐烂;而*T-17*的小苗在相同培养条件下培养相同的天数仍表现出良好的生长状态,藻体不变硬,无腐烂,说明*T-17*具有较强的耐高温性。此外,在日龄65 d的叶状体中,*T-17*的Chl. *a*和总藻胆蛋白(PE + PC)的含量分别是*WT*的1.45和1.54倍;*T-17*的平均厚度比*WT*减少26.4%。*T-17*的壳孢子放散量与*WT*相比差别不显著。在海区栽培试验中,*T-17*品系前4次收割的鲜菜总重量比当地栽培野生种(*Wt*)增加了16.3%,1~4次收割的鲜菜的最大光化学效率分别为*Wt*的1.06、1.12、1.17和1.27倍,而Chl. *a*含量分别是*Wt*的1.41、1.49、1.52和1.91倍,总藻胆蛋白含量分别是*Wt*的1.94、2.04、2.03和2.34倍。研究表明,与野生型品系相比,*T-17*品系在产量、品质和耐高温性等方面均明显提高,且性状稳定,生产适用性好,有望在生产上规模化栽培。

关键词: 条斑紫菜; 耐高温; 最大光化学效率; 光合色素; 中试

中图分类号: S 968.4

文献标志码: A

条斑紫菜 [*Pyropia yezoensis* (Ueda) M. S. Hwang & H. G. Choi]的生活史具有单倍体的叶状体和二倍体的丝状体世代,是世界上栽培历史最长、经济价值最高的经济海藻之一,被广泛栽培于中国、日本和韩国。在我国,条斑紫菜的年产量约占全国紫菜总产量的25%,但产值却达一半左右^[1]。

近年来,随着我国条斑紫菜栽培规模的进一步扩大,对良种的需求也不断增加,但由于连续多年使用同一种质,再加上栽培海区的规划混乱,栽培过密,栽培品种的种质出现了退化,导致产量、品质、抗逆性和抗病性等下降^[2]。目前,全球的温室

效应日益加剧,海水温度也逐年上升^[3],在每年的9月,附有紫菜壳孢子的网帘下海栽培后,受连续多年来海水温度回升的影响,总产生一定规模的烂苗和脱苗^[4],因此,生产上迫切需要产量高、品质好、耐高温且容易采苗的良种。近十多年来,国内外学者通过杂交育种和诱变育种等技术,已培育出多个条斑紫菜良种^[5-7],并在生产上得到应用,取得了较大的增产增收效果^[8-10],但仍未见耐高温的条斑紫菜新品种被选育出来的报道。

目前,本实验室已选育出多个具有一定高温耐受性的条斑紫菜新品系^[4,11],但对它的优良性

收稿日期:2014-05-06 修回日期:2014-07-01

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);公益性行业(农业)科研专项(200903030);国家农业科技成果转化资金项目(2013GB2C220537);上海市科委重点科技攻关项目(10391901100);国家海洋局公益专项(201105008,201105023);上海高校水产学一流学科建设项目

通信作者:严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

<http://www.sxuebao.cn>

状稳定性和生产适用性还缺乏深入研究。本实验以耐高温品系(*T*-17)和野生型品系(*WT*)为材料,通过室内培养及海区栽培,对它们的生长速率、最大光化学效率、光合色素、厚度、壳孢子放散量和产量等方面进行了研究,以验证 *T*-17 品系的耐高温等优良性状的稳定性,并对它的生产适用性进行评估,为将来大面积推广该新品系提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

条斑紫菜野生型品系(*WT*, LS-001)是2001年从江苏省吕泗海区紫菜栽培网帘上采回的一棵条斑紫菜叶状体,在室内放散出果孢子,由一个果孢子萌发长成的丝状体,被长期保存于实验室,保存方法参照文献[12]。条斑紫菜耐高温品系 *T*-17 是 *WT* 品系的叶状体经⁶⁰Co- γ 射线诱变处理后,从突变后的体细胞再生体中分离出来的耐高温型品系^[11]。该品系的分离与保存方法参照 *WT* 品系。

1.2 实验方法

叶状体的耐高温性测试 丝状体、壳孢子囊枝和壳孢子苗培养方法参照文献[13]。从18℃下已培养50 d的 *WT* 和 *T*-17 品系的小叶状体群体中随机选取40棵(体长4~7 cm),每10棵一组,分别在18、22、24和25℃下培养于500 mL的充气瓶里,随着叶状体的长大,培养瓶的体积逐渐增至1和2 L,光照强度为50 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗周期为10L:14D,培养液为自然海水加MES培养基配制而成^[14],每隔5天更换一次培养液,并定时测量叶状体的最大光化学效率、长度和鲜重。最大光化学效率(F_v/F_m)的测定方法:先将样品暗适应15 min以上,再使用mini-PAM叶绿素荧光仪(Walz Effectnich, Germany)对样品进行最大光化学效率(F_v/F_m)测定,每个数据重复测定3次,取其平均值,绝对生长率和特定生长率的计算方法参照文献[15]。

叶状体的活体吸收光谱和主要光合色素含量测定 将在18℃下培养50 d的 *WT* 和 *T*-17 品系的小叶状体,再分别在18、22、24和25℃下培养15 d后,测定叶状体的活体吸收光谱和3种主要光合色素(chlorophyll *a*, Chl. *a*; phycoerythrin, PE; phycocyanin, PC)的含量,测定方法参照文献

[13]。海区栽培叶状体的特性分析方法也与此相同。

叶状体的厚度测定 随机取在18℃下培养50 d的叶状体数棵或海区栽培的叶状体,分别取它们的梢部、中部和基部,用双面刀片(Fyling eagle)进行徒手横切,再在光学显微镜(OLYMPUS-BH)下,用Image-Pro Express软件对各部位的厚度进行测量。每个部位重复测定10次,取其平均值作为该部位的厚度。

室内壳孢子放散量测定 在一个250 mL烧杯中各加入50 mL的培养液和1个已成熟的贝壳丝状体进行充气培养,培养条件:温度为18℃,光照强度为50 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗周期10L:14D,每个品系设置3个平行试验组。培养1至数天后,壳孢子开始放散,每天12点将壳孢子水倒入直径为90 mm的培养皿中静止培养24 h后,再在光学倒置显微镜下按十字形路线随机统计20个视野(10 $\times$)内的壳孢子数目,取其平均值为单个视野的壳孢子数。然后,根据单个视野面积与培养皿的底面积之比,换算出一个培养皿的壳孢子数,即为1个贝壳的壳孢子日放散量。每个贝壳在壳孢子开始放散后连续计数20 d,20 d内的壳孢子合计数即为单个贝壳的总放散量。取3个贝壳的壳孢子放散量的平均值表示某个品系的壳孢子放散量。

海区栽培叶状体的最大光化学效率、光合色素、长度及产量的测定 中试海区为江苏省如东市长沙镇北渔海区(经度:121°18'34"W,纬度:32°28'32"N),该海域十分辽阔,潮流交换好。每次采收时,从栽培在同一海区的当地传统栽培野生种(*Wt*)和 *T*-17 品系中随机取叶片较完整的一定数量叶状体,阴干后带回实验室。然后,在18℃,光照强度50 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗周期10L:14D,条件下再充气培养3 d,待叶状体恢复后测定它们的最大光化学效率与光合色素。另外,从各品系中分别随机取30个个体测量长度,取其平均值。本实验以江苏省北渔地区的条斑紫菜栽培标准为准,以30张网帘(规格为2.5 m $\times$ 2.5 m)上所收获的紫菜重量作为单位产量。

2 结果

2.1 耐高温品系的生长特性

在18℃下培养的 *WT* 和 *T*-17 品系的叶状体

生长情况如图 1 所示。在日龄 50 d 之前,两个品系的生长差异不明显,但日龄 55 d 后,两者的生长速度差异越来越大,培养至第 85 天,WT 品系的平均体长为 30.67 cm,而 T-17 品系的平均体长达 126.67 cm,是 WT 品系的 4.13 倍。同时测定叶状体的鲜重发现,WT 品系的平均单棵鲜重为 826.9 mg,而 T-17 品系为 2 705.65 mg,是 WT 品系的 3.27 倍。此外,显微观察发现,日龄 70 d 的 WT 品系的叶状体已出现精子囊,藻体已成熟,而日龄为 85 d 的 T-17 品系叶状体仍未成熟。

2.2 耐高温品系对温度回升的耐受性

将在 18 ℃下培养 50 d 的 WT 和 T-17 品系的叶状体再分别培养在 18、22、24 和 25 ℃下,两个品系的绝对和特定生长率均随着温度的升高而下降(表 1),再培养 15 d,22、24 和 25 ℃组的 T-17 品系平均体长分别是 WT 品系的 2.7、2.9 和 2.6 倍。在 18、22 和 24 ℃下再培养 35 d,两个品系的绝对和特定生长率均随着培养天数的增加而降低,但 T-17 品系的下降幅度明显比 WT 品系小,T-17 品系的绝对生长率分别是 WT 品系的 17.71、15.81 和 33.00 倍,特定生长率分别为 WT 品系的 4.59、4.38 和 9.15 倍。再培养 WT 品系的苗 15 d,与 18 ℃组相比,22 ℃组的苗颜色已明显加深(图版 I -1,2),生长减慢,24 ℃和 25 ℃组

的苗颜色变黑、卷曲、变硬,生长严重受阻(图版 I -3,4)。而 T-17 品系的 22 ℃和 24 ℃组苗的颜色和生长与常温组(18 ℃)苗相比没有发生明显变化(图版 I -5~7),25 ℃组苗的颜色虽变得更红,但藻体不变硬、不卷曲,仍然维持着一定的生长速度(图版 I -8)。

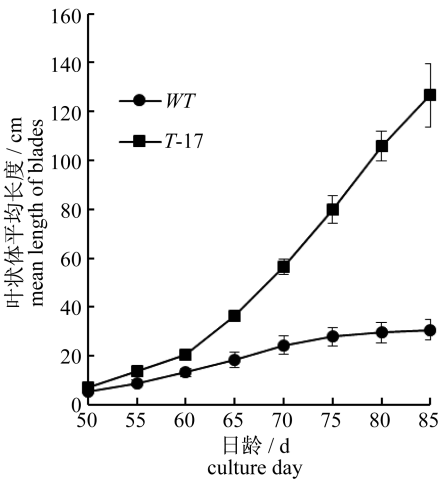


图 1 在室内 18 ℃下培养的条斑紫菜野生型品系 (WT) 和优良品系 (T-17) 的叶状体生长曲线
Fig.1 Growth curves of gametophytic blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis* cultured at 18 °C in the lab

表 1 在 18 ℃下培养 50 d 的条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17) 叶状体再在 18、22、24 和 25 ℃下培养 35 d 的生长率变化
Tab.1 Changes of growth rates of the blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) in *P. yezoensis* cultured at 18,22,24 and 25 °C for another 35 days,respectively,after being cultured at 18 °C for 50 days

生长率 growth rate	培养时间/d culture time	品系 strains							
		WT				T-17			
		18 ℃	22 ℃	24 ℃	25 ℃	18 ℃	22 ℃	24 ℃	25 ℃
绝对生长率/(cm/d) absolute growth rate	51 ~ 55	0.72	0.64	0.37	0.12	1.33	1.08	1.20	0.81
	56 ~ 60	0.88	0.69	0.27	0.02	1.35	2.44	1.98	0.48
	61 ~ 65	1.01	0.33	0.31	-0.07 ^a	3.16	2.69	1.56	0.30
	66 ~ 70	1.20	0.48	0.26		4.02	2.23	1.26	
	71 ~ 75	0.70	0.25	0.20		4.73	1.71	1.10	
	76 ~ 80	0.35	0.17	0.04		5.20	1.20	0.74	
	80 ~ 85	0.23	0.07	0.02		4.13	1.16	0.66	
特定生长率(%/d) specific growth rate	51 ~ 55	10.52	9.30	5.58	2.14	13.37	11.66	13.08	9.46
	56 ~ 60	8.11	6.74	3.21	0.34	8.04	13.90	11.66	4.01
	61 ~ 65	6.48	2.60	3.21	-1.11 ^a	11.45	8.77	5.98	2.15
	66 ~ 70	5.69	3.24	2.32		8.82	5.17	3.79	
	71 ~ 75	2.71	1.52	1.62		7.01	3.21	2.81	
	76 ~ 80	1.21	0.98	0.31		5.63	1.98	1.69	
	80 ~ 85	0.78	0.40	0.15		3.56	1.75	1.39	

注:a 表示叶状体出现腐烂;空白表示叶状体完全腐烂无法测量数据
Notes:a indicates blades began to decay;blank indicates blades decayed totally

将在 18 ℃ 下培养 50 d 的 WT 和 T-17 品系叶状体再分别培养在 22、24 和 25 ℃ 下,WT 和 T-17 品系的叶状体的最大光化学效率均随着培养温度的升高而下降,各温度组的 T-17 品系的最高光化学效率均明显高于 WT 品系(图 2)。在 18 ℃ 组中,再培养 15 d,WT 和 T-17 品系的最高光化学效率随着培养时间的延长均基本不变,再培养 20 d,WT 品系开始成熟,最高光化学效率开始下降,但 T-17 品系的最高光化学效率没有下降。在 22 ℃ 下再培养 10 d,与 18 ℃ 组相比,WT 和 T-17 品系

的最高光化学效率均无明显变化,但再培养 15 d,WT 品系的最高光化学效率就出现明显的降低;再培养 25 d,T-17 品系的最高光化学效率才出现较明显的降低。叶状体被培养至 85 d,18、22 和 24 ℃ 组的 WT 品系的最高光化学效率分别是日龄 50 d 时的 0.92、0.69、0.43 倍,而 T-17 品系的最高光化学效率分别是日龄 50 d 时的 1.03、0.86、0.66 倍,下降幅度明显比 WT 品系小,T-17 品系的最高光化学效率分别是 WT 品系的 1.17、1.29 和 1.58 倍。

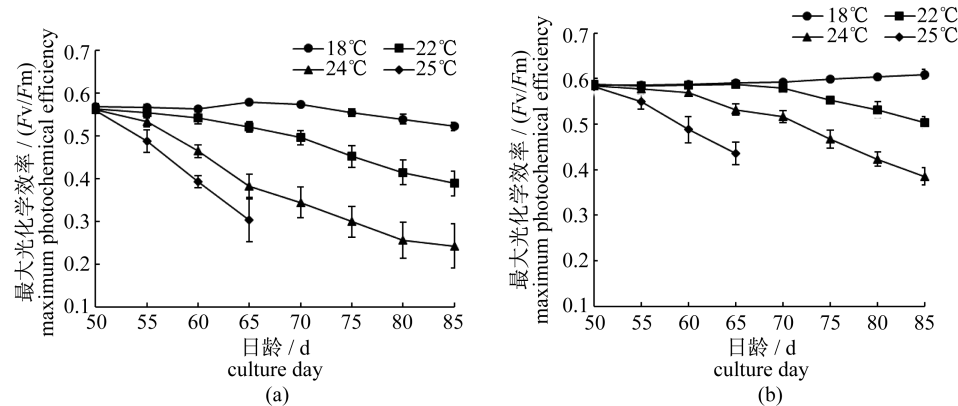


图 2 在 18 ℃ 下培养 50 d 的条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17) 叶状体再在不同温度下继续培养 35 d 的最大光化学效率变化

(a) WT 品系; (b) T-17 品系

Fig. 2 Maximum photochemical efficiency of the blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis* cultured at 18, 22, 24 and 25 ℃ for another 35 days, respectively, after being cultured at 18 ℃ for 50 days

(a) WT strain; (b) T-17 strain

2.3 耐高温品系的叶状体活体吸收光谱和主要光合色素含量

在 18 ℃ 下培养 50 d 的 WT 和 T-17 品系的叶状体再在 18、22、24 和 25 ℃ 下培养 15 d,其叶状体的活体吸收光谱在 350 ~ 750 nm 之间均出现了 5 个吸收高峰,但各峰的峰值均随着温度的升高而增加(图 3)。

WT 品系的 3 种主要光合色素 (Chl. a、PE 和 PC) 含量也均随着温度的升高而增加,24 和 25 ℃ 组的光合色素含量明显高于 18 和 22 ℃ 组(表 2)。T-17 品系的光合色素含量与 WT 品系的变化类似,但在常温和高温组中,T-17 品系的光合色素含量均高于 WT 品系,18、22、24 和 25 ℃ 组的 T-17 品系 Chl. a 含量分别是 WT 品系的 1.45、1.59、1.21、0.74 倍,差异显著 ($P < 0.05$); T-17 品系的藻红蛋白 (PE) 分别是 WT 品系的 1.63、

1.70、1.72、1.37 倍,差异极显著 ($P < 0.01$); T-17 品系的藻蓝蛋白 (PC) 分别是 WT 品系的 1.26、1.97、1.05、0.97 倍,前两个组的差异极显著 ($P < 0.01$),后两组的差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.4 耐高温品系的藻体厚度

室内培养 50 d 的 WT 和 T-17 品系的叶状体厚度从梢部到基部逐渐增厚,T-17 品系的平均厚度为 $(22.11 \pm 1.02) \mu\text{m}$,比 WT 品系减少 26% (表 3),差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.5 耐高温品系的壳孢子放散量

WT 和 T-17 品系的壳孢子在连续 20 d 的放散时间内出现了两个高峰,分别为 3 ~ 6 d 和 14 ~ 19 d。在第一个放散高峰中,WT 和 T-17 的最大日平均放散量分别 1.19×10^6 个/壳和 1.24×10^6 个/壳,均出现在第 3 天;在第二个放散高峰中,WT 和 T-17 的最大日平均放散量分别为 $1.20 \times$

10⁶个/壳和 1.28 × 10⁶个/壳,出现在第 15 天(图 4)。连续 20 d 的壳孢子放散总量,WT 和 T-17 品系分别为 8.01 × 10⁶个/壳和 8.94 × 10⁶个/壳,两者无显著差异($P>0.05$)。

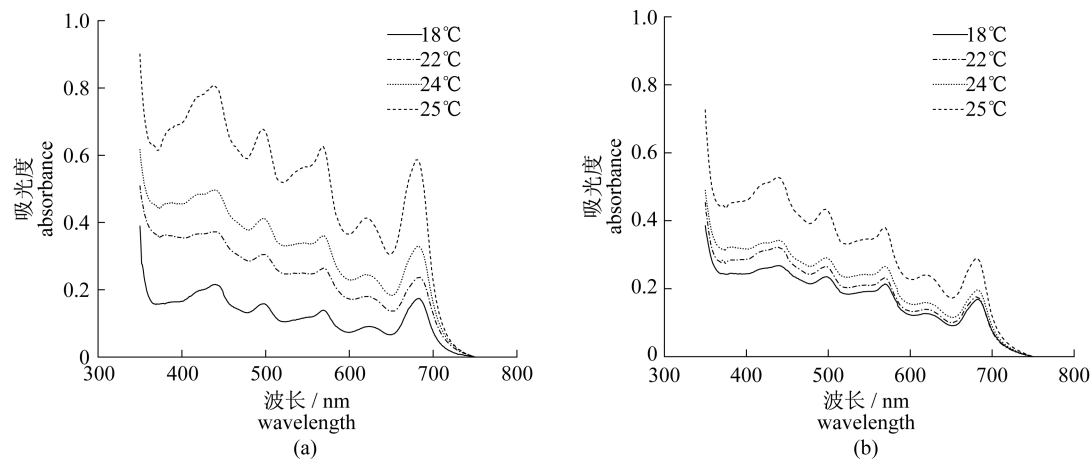


图 3 在 18℃下培养 50 d 的条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17) 叶状体再在不同温度下继续培养 15 d 后的叶状体吸收光谱
(a) WT 品系; (b) T-17 品系

Fig.3 In vivo absorption spectra of the gametophytic blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis* cultured at 18,22,24 and 25℃ for another 15 days, respectively, after being cultured at 18℃ for 50 days

(a) WT strain; (b) T-17 strain

表 2 在 18℃下培养 50 d 的条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17) 叶状体再在不同温度下继续培养 15 d 后的 Chl. a、PE、PC 和总藻胆蛋白 (PB) 的含量
Tab.2 Contents of Chl. a, PE, PC and PB in the gametophytic blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis* cultured at 18,22,24 and 25℃ for another 15 days, respectively, after being cultured at 18℃ for 50 days

品系 strains	培养温度/℃ temperature	光合色素含量/(mg/g) content of photosynthetic pigments			
		叶绿素 a Chl. a	藻红蛋白 PE	藻蓝蛋白 PC	总藻胆蛋白 PB
WT	18	5.13 ± 0.20 ⁱ	22.44 ± 2.17	7.04 ± 0.96	29.48
	22	5.26 ± 0.23	23.21 ± 1.19	8.77 ± 1.43	31.98
	24	7.27 ± 0.53	41.10 ± 2.08	16.70 ± 1.18	57.80
	25	11.35 ± 0.28	50.73 ± 2.39	16.60 ± 1.18	67.33
T-17	18	7.45 ± 0.27**	36.51 ± 2.17**	8.87 ± 1.04**	45.38
	22	8.35 ± 0.09*	39.54 ± 2.47**	17.28 ± 0.73**	56.82
	24	8.80 ± 0.24*	70.80 ± 1.06**	17.50 ± 1.01	88.30
	25	8.40 ± 0.32**	69.40 ± 3.11*	16.15 ± 0.64	85.54

注:i 表示平均值 ± 标准差。* 表示与 WT 品系差异显著 ($P<0.05$, *t*-test), ** 表示与 WT 品系差异极显著 ($P<0.01$, *t*-test)
Notes: i indicates the values are means ± SD. * significant difference with the WT strain ($P<0.05$, *t*-test); ** highly significant difference with the WT strain ($P<0.01$, *t*-test)

表 3 日龄为 50 d 的条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17) 的叶状体各部位厚度
Tab.3 Thickness of different parts of the 50-day-old gametophytic blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis*

品系 strains	叶状体各部位的平均厚度/μm thickness of different parts of the blades			平均厚度/μm mean thickness
	梢部 apical	中部 middle	基部 basal	
WT	29.59 ± 9.59	29.81 ± 9.81	30.67 ± 0.67	30.02 ± 0.57
T-17	20.94 ± 0.94**	22.58 ± 2.58**	22.81 ± 2.81**	22.11 ± 1.02**

注: * 表示与 WT 品系差异显著 ($P<0.05$, *t*-test); ** 表示与 WT 品系差异极显著 ($P<0.01$, *t*-test)
Notes: * significant difference with the WT strain ($P<0.05$, *t*-test); ** highly significant difference with the WT strain ($P<0.01$, *t*-test)

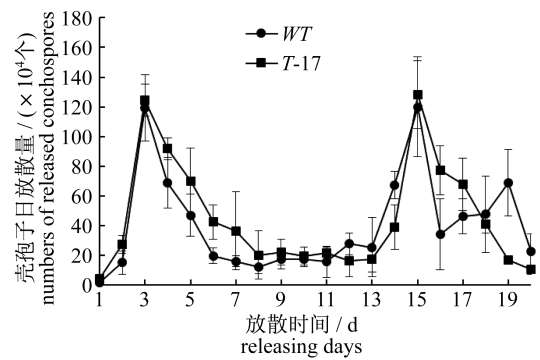


图 4 条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17) 在 18 °C 下连续 20 d 的壳孢子日放散量

Fig.4 Daily numbers of conchospores released from the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis* at 18 °C over 20 days of a releasing period

2.6 耐高温品系的海区中试结果

不同批次收割的耐高温品系叶状体的最大光化学效率和光合色素含量 最大光化学效率 (F_v/F_m)可直接反映植物光合作用的强弱。海区栽培的两个品系的叶状体最大光化学效率均随着收割次数的增加而下降(图 5)。从第 2 次收割开始, *Wt* 品系的最大光化学效率就出现明显下降,至第 4 次收割时已下降了 17.48%;而 *T-17* 品系至第 4 次收割时也只下降了 1.61%,依然保持着较高的最大光化学效率。

在不同时间收割的叶状体中,两个品系的 3 种主要光合色素 (Chl. *a*、PE 和 PC) 含量也均随着收割次数的增加而逐渐降低(表 4),但每次收割的 *T-17* 品系叶状体的光合色素含量均显著高于

Wt 品系。*Wt* 品系的光合色素含量在前两次收割的叶状体中变化不大,但在第 3 次收割的叶状体中就显著下降,至第 4 次收割时, *Wt* 品系的 Chl. *a*、PE 和 PC 含量分别下降了 47.06%、41.57% 和 35.3%。与此相比,第 4 次收割的 *T-17* 品系的叶状体,其 Chl. *a*、PE 和 PC 含量分别只下降了 28.05%、32.57% 和 6.47%,绝对含量分别是 *Wt* 品系的 1.91、2.16、2.67 倍;肉眼观察,发现 *T-17* 品系的叶状体颜色比 *Wt* 品系更鲜艳,光泽更好。

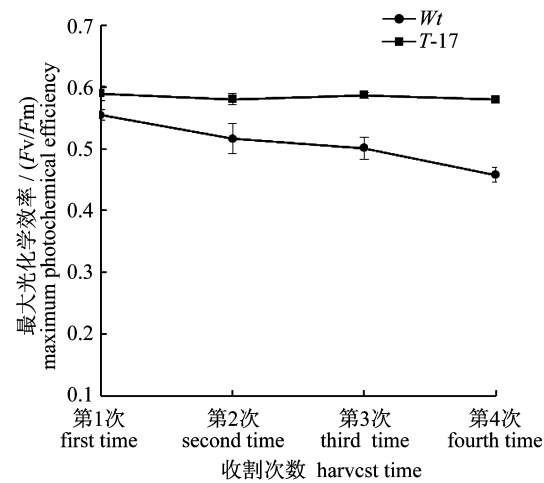


图 5 海区栽培的条斑紫菜传统栽培野生种 (*Wt*) 和耐高温品系 (*T-17*) 前 4 次收割的叶状体的最大光化学效率

Fig.5 Maximum photochemical efficiency of the harvest blades of the wild-type strain (*Wt*) and the improved strain (*T-17*) of *P. yezoensis* cultivated in mariculture farm and harvested at different times

表 4 海区栽培的条斑紫菜传统栽培野生种 (*Wt*) 和耐高温品系 (*T-17*) 前 4 次收割的叶状体的 Chl. *a*、PE、PC 与总藻胆蛋白 (PB) 含量

Tab.4 Contents of Chl. *a*, PE, PC and PB of the first four harvest blades of the wild-type strain (*Wt*) and the improved strain (*T-17*) of *P. yezoensis* cultivated in mariculture farm

品系 strains	收获批次 harvest times	光合色素含量/(mg/g) content of photosynthetic pigments			
		叶绿素 <i>a</i> Chl. <i>a</i>	藻红蛋白 PE	藻蓝蛋白 PC	总藻胆蛋白 PB
<i>Wt</i>	第 1 次 first time	4.82 ± 0.11	15.55 ± 0.35	7.41 ± 0.16	22.97
	第 2 次 second time	4.32 ± 0.14	13.59 ± 0.53	6.91 ± 0.38	20.50
	第 3 次 third time	3.55 ± 0.40	12.77 ± 1.82	5.79 ± 0.17	18.56
	第 4 次 fourth time	2.55 ± 0.17	9.09 ± 1.18	4.80 ± 0.28	13.88
<i>T-17</i>	第 1 次 first time	6.77 ± 0.17 **	29.14 ± 1.12 **	15.32 ± 0.92 **	44.46
	第 2 次 second time	6.45 ± 0.45 **	27.08 ± 0.85 **	14.74 ± 0.39 **	41.82
	第 3 次 third time	5.37 ± 0.47 *	24.20 ± 0.62 **	13.45 ± 0.71 **	37.66
	第 4 次 fourth time	4.87 ± 0.09 **	19.65 ± 0.37 **	12.79 ± 0.50 **	32.44

注: * 表示与 *Wt* 品系差异显著 ($P < 0.05$, *t*-test); ** 表示与 *Wt* 品系差异极显著 ($P < 0.01$, *t*-test)

Note: * significant difference with the *Wt* strain ($P < 0.05$, *t*-test); ** highly significant difference with the *Wt* strain ($P < 0.01$, *t*-test)

不同批次收割的耐高温品系叶状体的平均长度、厚度与产量 *T*-17 品系前 4 次收割的叶状体平均长度明显大于 *Wt* 品系(图 6),*T*-17 品系前 4 次收割的叶状体平均长度达(18.08±4.36)cm,而 *Wt* 品系仅为(10.75±2.86)cm,较 *T*-17 品系短 8 cm 左右。在第 4 次收割时,*Wt* 品系的多数叶状体的梢部已成熟,而 *T*-17 品系基本不成熟(图版 II-7,8)。

在第 1 次收割的叶状体中,梢部、中部、基部的厚度,*T*-17 品系均小于 *Wt* 品系(表 5),*Wt* 品系的平均厚度为(30.75±0.57)μm,而 *T*-17 品系的平均厚度为(23.82±0.49)μm,比 *Wt* 品系薄 23.54%,差异极为显著($P<0.01$)。统计海区栽培的 *T*-17 品系产量发现,*Wt* 品系前 4 次收割的鲜菜产量为 11 200 kg/hm²,而 *T*-17 品系为 13 025 kg/hm²; *T*-17 比 *Wt* 品系增产约 16.29%。从 *Wt* 与 *T*-17 品系每次采收的重量来看,前两次收割的鲜菜产量差异较小,而后二次收割的鲜菜产量差异明显;第二次收割之后,*T*-17 的产量较稳定,维持在 3 000 kg/hm²,而 *Wt* 品系则呈逐渐

下降的趋势(表 6)。

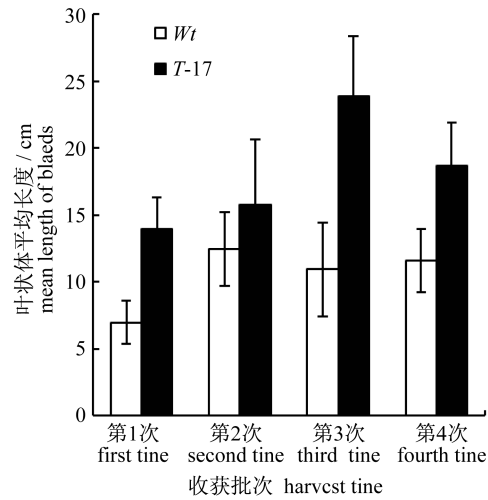


图 6 海区栽培的条斑紫菜传统栽培野生种(*Wt*)和耐高温品系(*T*-17)前 4 次收割的叶状体的平均长度
Fig. 6 Mean length of the harvest blades of the wild-type strain(*Wt*) and the improved strain (*T*-17) of *P. yezoensis* cultivated and harvested at different times in mariculture farm

表 5 海区栽培的条斑紫菜传统栽培种(*Wt*)和耐高温品系(*T*-17)第一次收割的叶状体各部位厚度
Tab. 5 Thickness of different parts of the first harvest blades of the wild-type strain(*Wt*) and the improved strain(*T*-17) of *P. yezoensis* cultivated in the mariculture farm

品系 strains	叶状体各部位的平均厚度/μm thickness of different parts of the blades			平均厚度/μm mean thickness
	梢部 apical	中部 middle	基部 basal	
<i>Wt</i>	30.11±1.12	30.91±1.47	31.22±1.69	30.75±0.57
<i>T</i> -17	23.30±1.16**	23.88±1.63**	24.28±1.43**	23.82±0.49**

注: ** 表示与 *Wt* 品系差异极显著($P<0.01$, *t*-test)
Note: ** highly significant difference with the *Wt* strain($P<0.01$, *t*-test)

表 6 海区栽培的条斑紫菜传统栽培种(*Wt*)和耐高温品系(*T*-17)前 4 次收割的叶状体的产量
Tab. 6 The yields of the harvest blades of the wild-type strain(*Wt*) and the improved strain(*T*-17) of *P. yezoensis* cultivated and harvested at different times in the mariculture farm

品系 strains	每次收割的鲜菜产量/(鲜重 kg/hm ²) yields per unit area of every harvest				前 4 次收割的鲜菜总产量/(鲜重 kg/hm ²) total fresh weights of the first four harvests per unit area
	第 1 次 first time	第 2 次 second time	第 3 次 third time	第 4 次 fourth time	
<i>Wt</i>	2 675	3 000	2 925	2 600	11 200
<i>T</i> -17	2 775	3 200	3 400	3 650	13 025

3 讨论

华北半叶紫菜的繁殖组织形成与最大光化学效率的降低有紧密的联系^[16],条斑紫菜在精子囊形成过程中也伴随着最大光化学效率的降低^[17]。在本实验中,18℃下培养 70 d 的 *WT* 品系逐渐成熟,最大光化学效率也明显下降,但 *T*-17 品系即

使培养 85 d 也不成熟,最大光化学效率变化较小。温度对植物的光合作用有重要影响,高温胁迫会导致紫菜 PS II 的有活性中心向无活性中心转化,其中 PS II 反应中心失活,可以分为可逆失活和不可逆失活^[18]。随着温度的升高,条斑紫菜野生品系和耐高温品系的叶状体光合色素含量均出现明显的升高,但最大光化学效率却出现了明

显的下降,其可能的原因是高温导致了 PSII 中心的色素和色素蛋白失活,叶状体为了维持生存,又不断地合成补充其色素,但补充的量少于失活的量,造成 PSII 反应中心中有活性的光合色素含量还是下降,使得最大光化学效率下降,但总的色素含量却上升。姚春燕等^[19]发现高温胁迫也会使条斑紫菜丝状体最大光化学效率下降,与本实验的结果一致。在 18 ℃下培养 50 d 的 WT 品系叶状体在 22 ℃下再培养 20 d,其生长速率和最大光化学效率明显下降,如果在 24 ℃以上的温度下再培养 15 d,其生长速率和最大光化学效率就十分显著地下降,叶片的颜色变黑、叶片变卷曲变硬、出现腐烂,长时间的培养可能对 WT 品系的叶状体 PS II 反应中心造成不可逆的失活。陈贻竹等^[20]认为,经过高温驯化的植物,其高温耐受性也会提高,T-17 品系是经过选育的耐高温品系^[11],在 18 ℃下培养 50 d 的叶状体,再在 22 ℃和 24 ℃下培养 35 d,它们的生长速率和最大光化学效率也均出现下降,但下降的幅度明显比 WT 品系缓慢;在 25 ℃下再培养 15 d 的叶状体虽然颜色有些加深但没有出现腐烂。由此可见,T-17 品系比 WT 品系具有更好的耐高温能力。

商品紫菜的品质不仅取决于 3 种主要光合色素(Chl. *a*、PE 和 PC)含量的高低,而且还与三者之间的比例相关^[21]。分析条斑紫菜耐高温品系的生物学特性时发现,叶状体的活体吸收光谱和 3 种主要光合色素含量随着温度的升高而升高^[4,11],在本实验中也发现了类似的现象,在 18 ℃下培养 50 d 的 T-17 品系叶状体,如果继续在 18 ℃下培养 15 d,藻胆蛋白(PE + PC)含量为 45.4 mg/g,但如果在 24 ℃下再培养 15 d,其藻胆蛋白(PE + PC)含量增至 88.3 mg/g,几乎增加了一倍。WT 品系也有类似的现象出现,但在高温条件下培养的两个品系的叶状体最大光化学效率反而下降。

脐形紫菜的最大光化学效率和光合色素含量均呈季节性变化,二者呈正相关关系^[22]。本实验也发现,海区栽培的 *Wt* 和 T-17 品系的叶状体,其最大光化学效率和光合色素含量均随着叶状体的日龄增加而逐渐下降,两个品系的降低幅度却不同。第 4 次收割的叶状体,*Wt* 品系的最大光化学效率、Chl. *a* 和总藻胆蛋白(PE + PC)含量分别下降了 17.48%、47% 和 40%,而 T-17 品系分别只

下降了 1.61%、28%、27%,它的叶状体生长也明显比 *Wt* 品系快,颜色和光泽均明显比 *Wt* 品系好,暗示 T-17 品系的叶状体老化速度比 WT 品系慢很多。

综上所述,T-17 品系具有生长快、最大光化学效率高、耐高温、光合色素含量高、厚度薄、产量高、成熟晚,品质下降慢等优点,具有较高的生产应用价值。

参考文献:

- [1] Zhang M R, Lu Q Q, Xu G P. Present situation and reflections on the healthy development of *Porphyra yezoensis* industrial[J]. China Fisheries, 2012(11): 15-19. [张美如, 陆勤勤, 许广平. 条斑紫菜产业现状及对其健康发展的思考. 中国水产, 2012(11): 15-19.]
- [2] Gu H Z, Shi F. Present development situation and approaches of *Porphyra yezoensis* industry in Nantong[J]. Ocean Development and Management. 2008, 25(V00): 84-86. [顾汉忠, 施锋. 南通市条斑紫菜产业发展的现状和途径. 海洋开发与管理, 2008, 25(V00): 84-86.]
- [3] Jones P D, New M, Parker D E, et al. Surface air temperature and its changes over the past 150 years [J]. Reviews of Geophysics, 1999, 37(2): 173-199.
- [4] Wang H Z, YAN X H, Li L. Selection and characterization of a high-temperature resistant strain of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(2): 363-369. [王华芝, 严兴洪, 李琳. 条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 耐高温品系的筛选及特性分析. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 363-369.]
- [5] Miura A. Studies on the breeding of cultivated *Porphyra* (Rhodophyceae) [C] // Tokyo: 3rd International Ocean Development Conference—Society of Marine Resources. 1975: 81-93.
- [6] Miura A, Shin J. Crossbreeding in cultivars of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta)—preliminary report[J]. Korean Journal of Phycology. 1989, 4: 207-211.
- [7] The national technology promotion station of aquatic products. 2014 aquatic new breed promotion guidelines [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2014: 145-164. [全国水产品技术推广总站. 2014 水产新品种推广指南. 北京: 中国农业出版社, 2014: 145-164.]

- [8] Li S Y, Zheng B F. Studies on the rotation culture of *Porphyra haitanensis* T J Chang et B F Zheng and *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*. 1992, 23 (5) : 537 – 540. [李世英, 郑宝福. 坛紫菜与条斑紫菜轮栽试验. 海洋与湖沼, 1992, 23 (5) : 537 – 540.]
- [9] Niwa K, Furuita H, Yamamoto T. Changes of growth characteristics and free amino acid content of cultivated *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) blades with the progression of the number of harvests in a nori farm [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2008, 20 (5) : 687 – 693.
- [10] Niwa K, Yamamoto T, Furuita H, et al. Mutation breeding in the marine crop *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) : Cultivation experiment of the artificial red mutant isolated by heavy-ion beam mutagenesis [J]. *Aquaculture*, 2011, 314 (1) : 182 – 187.
- [11] 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.
- [12] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture [J]. *Japanese Journal of Phycology*, 1984, 32 : 333 – 347.
- [13] Yan X H, Fujita Y, Aruga Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, 12 (1) : 69 – 81.
- [14] 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. [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. 海洋与湖沼, 1986, 17 (3) : 217 – 221.]
- [15] Stein J R. Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements [M]. London: Cambridge University Press, 1973: 289 – 311.
- [16] Wang Y X, Wang M M, Xia D M, et al. Photosynthetic characteristics during the formation of reproductive tissues of *Porphyra Katadai* var. *Hemiphylla* [J]. *Journal of Nanjing Normal University: Natural Science*, 2011, 34 (3) : 95 – 102. [王云霞, 王苗苗, 夏洞明, 等. 华北半叶紫菜繁殖组织形成期间的的光合特性研究. 南京师大学报: 自然科学版, 2011, 34 (3) : 95 – 102.]
- [17] Yang R, Zhou W, Shen S, et al. Morphological and photosynthetic variations in the process of spermatia formation from vegetative cells in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) and their responses to desiccation [J]. *Planta*, 2012, 235 (5) : 885 – 893.
- [18] Cao J. Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1990, 1015 (2) : 180 – 188.
- [19] Yao C Y, Jiang H X, Zhu J Y, et al. Effects of temperature stress on chlorophyll fluorescence characteristic of *Porphyra conchocelis* [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2011 (1) : 277 – 282. [姚春燕, 姜红霞, 朱建一, 等. 温度胁迫对紫菜丝状体叶绿素荧光活性的影响. 江苏农业科学, 2011 (1) : 277 – 282.]
- [20] Chen Y Z, Li X P, Xia L, et al. The application of chlorophyll fluorescence technique in the study of responses of plants to environmental stresses [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 1995, 3 (4) : 79 – 86. [陈贻竹, 李晓萍, 夏丽, 等. 叶绿素荧光技术在植物环境胁迫研究中的应用. 热带亚热带植物学报, 1995, 3 (4) : 79 – 86.]
- [21] Aruga Y. Color and the pigments of *Porphyra yezoensis* [J]. *Iden*, 1980, 34 (9) : 8 – 13.
- [22] Sampath-Wiley P, Neefus C D, Jahnke L S. Seasonal effects of sun exposure and emersion on intertidal seaweed physiology: Fluctuations in antioxidant contents, photosynthetic pigments and maximum photochemical efficiency in the red alga *Porphyra umbilicalis* Kützinger (Rhodophyta, Bangiales) [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2008, 361 (2) : 83 – 91.

Characterization of a high-temperature resistant strain of *Pyropia yezoensis* and its pilot cultivation in mariculture farm

HUANG Wen¹, LÜ Feng², YAN Xinghong^{1,3*}

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

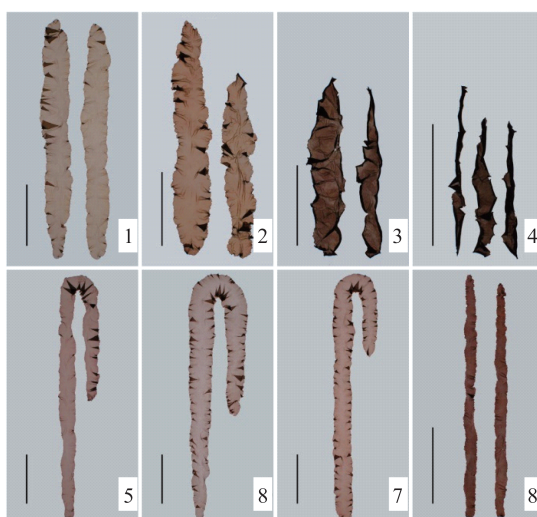
2. Bioengineering Department, Nantong Agriculture College, Nantong 226007, China;

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

Abstract: In this paper, the characteristics stability and the cultivation applicability of the improved strain (*T-17*) of *Pyropia yezonensis* were evaluated according to the results of laboratory cultivation and pilot cultivation in mariculture farm. The results showed that: in comparison with the wild-type strain (*WT*) of *Pyropia yezonensis*, the blades of the *T-17* strain have obvious advantages in growth rates, maximum photochemical efficiency, contents of main photosynthetic pigments, blade thicknesses and yields of pilot cultivation. When the blades after being cultured at 18 °C for 50 days were cultured at 18, 22 and 24 °C for another 35 days, the absolute growth rates of the blades of *T-17* strain were 17.71, 15.81 and 33 times higher than those of the *WT* strain, respectively; the specific growth rates of the *T-17* strain were 4.59, 4.38 and 9.15 times higher than those of the *WT* strain, respectively; the maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) of the *T-17* strain were 1.17, 1.29 and 1.58 times higher than those of the *WT* strain, respectively. The gametophytic blades of the *WT* strain turned deeply dark, curly hardened and began to decay when the blades of the *WT* were cultured at 22 °C for 25 days, 24 °C for 15 days and 25 °C for 10 days, respectively, while the blades of the *T-17* did not harden, did not decay and grew well in the same culture conditions and were cultured for the same period. When the blades were cultured at 18 °C for 65 days, the contents of Chl. *a*, and phycobiliprotein (PE + PC) of the *T-17* strain were 1.45 and 1.54 times higher than those of the *WT* strain. The mean blade thickness of the *T-17* strain was less than the *WT* strain by 26.4%. The releasing number of conchospores from *T-17* has no significant difference with the *WT* strain. The blades were collected and studied from the first harvest to the fourth harvest in the pilot cultivation. It was found that the fresh yield of the *T-17* strain of the total amount of harvests in the first four times increased by 16.3% compared with traditional cultivar (the wild-type, *Wt*), the maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) of the blades of the *T-17* strain were 1.06, 1.12, 1.17 and 1.27 times higher than that of the *Wt* strain, respectively; the Chl. *a* contents in the blades of *T-17* strain were 1.41, 1.49, 1.52 and 1.91 times higher than that of the *Wt* strain, respectively; the phycobiliprotein contents in the blades of the *T-17* strain were 1.94, 2.04, 2.03 and 2.34 times higher than that of the *Wt* strain, respectively. Compared with the wild-type strain, the *T-17* strain had higher yield, stronger resistance to high-temperature and higher quality, and good stability of the characteristics. This strain has probably great potential to be applied in commercial cultivation.

Key words: *Pyropia yezoensis*; high-temperature resistance; maximum photochemical efficiency; photosynthetic pigments; pilot cultivation

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



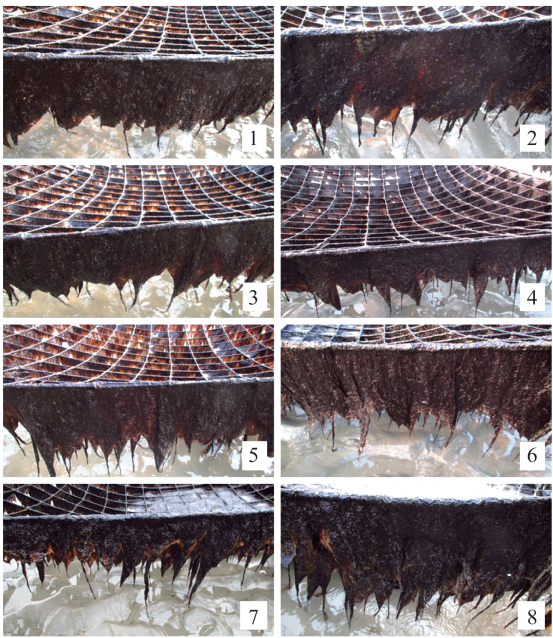
图版 I 在 18 °C 下培养 50 d 的条斑紫菜野生型 (WT) 和耐高温品系 (T-17)

叶状体再在 18、22、24 和 25 °C 下培养 15 d 后的藻体大小与颜色变化

1 ~ 4 分别为在 18、22、24 和 25 °C 下再培养 15 d 的 WT 品系叶状体; 5 ~ 8 分别为在 18、22、24 和 25 °C 下再培养 15 d 的 T-17 品系叶状体, 图中标尺均表示 5 cm

Plate I The size and color of the gametophytic blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (T-17) of *P. yezoensis* cultured at 18, 22, 24 and 25 °C for another 15 days, respectively, after being cultured at 18 °C for 50 days

1 - 4. the 65-days-old gametophytic blades of WT strain the wild-type strain (WT) after being cultured at 18, 22, 24 and 25 °C for another 15 days, respectively; 5 - 8. the 65-days-old gametophytic blades of the improved strains (T-17) after being cultured at 18, 22, 24 and 25 °C for another 15 days, respectively. Scale bars = 5 cm



图版 II 海区栽培的条斑紫菜传统栽培野生种 (*Wt*) 和
耐高温品系 (*T-17*) 前 4 次收割前的叶状体对比

1、3、5、7. 依次为条斑紫菜传统栽培野生种 (*Wt*) 第 1~4 次收割前的叶状体; 2、4、6、8. 依次为条斑紫菜耐高温品系 (*T-17*) 第 1~4 次收割前的叶状体

**Plate II Comparison of the growth of the first four harvest blades of the
wild-type strain (*Wt*) and the improved strain (*T-17*) of
P. yezoensis cultivated in the mariculture farm**

1,3,5,7. The first,second ,third and fourth harvest of the blades of the wild-type strain(*Wt*) cultivated in mariculture farm ,respectively; 2,4,6,8. The first,second ,third and fourth harvest of the blades of the improved strain(*T-17*) cultivated in mariculture farm ,respectively.