

# 坛紫菜耐低盐品系的选育与特性分析\*

檀应华<sup>1</sup> 黄林彬<sup>1,2</sup> 严兴洪<sup>1,2</sup>

(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)

**提要** 本实验室采用人工诱变技术获得一个坛紫菜耐低盐品系(YZ-7),为了验证该品系的耐低盐性状能否遗传,本文对其壳孢子和 F<sub>1</sub> 叶状体的低盐耐受性分别进行了测试,并以坛紫菜野生品系(WT)作为对照,结果表明:在不同盐度下培养 2 周的 YZ-7 和 WT 的壳孢子,在 26 盐度组存活率无显著差异;在 15 盐度组,YZ-7 的壳孢子存活率和假根发生率分别比 WT 提高了 34%和 35%;在 8 和 5 盐度组,YZ-7 的壳孢子存活率、分裂率及假根发生率分别比 WT 提高了 65%、32%和 62%,以及 137%、80%和 154%;在 3 盐度组,YZ-7 的壳孢子存活率和分裂率分别比 WT 提高了 458%和 171%,其中约 44.9%的 YZ-7 壳孢子萌发体能形成假根,而 WT 的壳孢子萌发体基本上不长假根。在 26 盐度中培养 35d 后的 F<sub>1</sub> 叶状体再分别在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 30d, YZ-7 叶状体的特定生长率分别为 WT 的 1.7、1.9、1.5、1.6 和 1.6 倍,绝对生长率分别是 WT 的 3.4、4.1、1.8、2.0 和 1.6 倍。此外, YZ-7 叶状体的叶绿素荧光活性(PS II 最大光量子产量、实际光量子产量)及三种主要光合色素(叶绿素 a、藻红蛋白和藻蓝蛋白)的含量也明显高于 WT。上述结果证实,坛紫菜选育品系 YZ-7 是一个耐低盐且生长快的优良品系,其优良性状可稳定传递给下一代,有望被培育成适宜栽培的新品种。

**关键词** 坛紫菜;新品系;耐低盐;壳孢子;F<sub>1</sub> 叶状体

**中图分类号** S968.4 **doi:** 10.11693/hyh20130400022

紫菜是经济价值很高的栽培海藻之一,其产品深受中、日、韩等国人民的喜爱。我国主要栽培坛紫菜和条斑紫菜,其中坛紫菜是我国的特有种,属暖温性红藻,被广泛栽培于浙、闽、粤三省的沿海,其年产量约占全国紫菜年总产量的 75%(马家海等,1996)。坛紫菜是一种广盐性海藻,适合在营养盐丰富的入海河口附近栽培,但是目前人工栽培所用的种质基本上为野生种,经过数十年的连续使用,未经选育,对低盐、高温和病害等逆境的耐受性大大降低(游华,1999;严兴洪等,2008b;宋武林,2009;王长青等,2011)。在栽培期间,尤其是刚下海挂网的壳孢子苗,如果遭遇强台风或者河流上游发生持续性的强降雨,可使栽培海域表层的海水盐度急剧下降,造成壳孢

子苗生长变慢或脱苗,影响产量。因此,生产上亟需耐低盐耐受性强的优良品系来替代野生品系。人工选育的坛紫菜耐低盐品种(系)不仅能保证大规模栽培的顺利进行,而且还有利于在近河口的低盐度海区栽培紫菜,拓宽栽培海域,缓解传统紫菜栽培海区密度过大的压力。另外,如果能在靠近长江口等富营养化较严重的低盐度海区栽培紫菜,对水域生态的修复具有重要价值。

本实验室通过人工选育已获得一个耐低盐的坛紫菜突变品系(YZ-7),它的体细胞及再生叶状体均表现出良好的耐低盐性能(严兴洪等,2008a)。本文旨在通过对该品系的后代和叶状体进行耐低盐性测试,验证其耐低盐的性状是否能稳定遗传,以期选育出

\* 国家高技术研究发展计划(863 计划),2012AA10A411 号;国家自然科学基金项目,31072208 号;农业部公益性专项,200903030 号;国家海洋局公益专项,201105008 号,201105023 号;国家农业科技成果转化资金项目,2011GB2C000005 号;上海市科委重点科技攻关项目,10391901100 号;上海高校水产学一流学科建设项目。檀应华,硕士研究生, E-mail: tanyinghua8631@163.com

通讯作者: 严兴洪,教授,博导, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

收稿日期: 2013-04-13, 收修改稿日期: 2013-07-08

可用于大规模栽培的耐低盐新品种, 促进我国紫菜产业的可持续发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本实验所用坛紫菜野生品系(*WT*, PT-001), 从采自福建省平潭岛岩礁上的一颗自然生长的叶状体中分离所得; 坛紫菜突变品系(*YZ-7*)通过对 *WT* 叶状体进行人工辐射诱变和低盐胁迫筛选获得(严兴洪等, 2005), 两个品系均以自由丝状体的形式保存于实验室内, 保存方法同 Kato 等(1984)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 *WT* 和 *YZ-7* 叶状体圆盘的耐低盐性测试** 坛紫菜叶状体的室内培养方法同梁志强(2004)。用打孔器( $\phi=4\text{mm}$ )分别从 *WT* 和 *YZ-7* 的叶状体(日龄均为 40d)上各取 10 个圆盘体, 置于同一个培养瓶(500mL)中进行充气培养(吕峰等, 2010), 培养液的盐度为 8, 由盐卤海水、蒸馏水和 MES 培养基配制而成(王素娟等, 1986)。培养条件: 温度为  $24^{\circ}\text{C}$ , 光量子通量密度为  $50\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 光周期为 10L : 14D, 每隔 5d 更换一次培养液, 并测量一次圆盘体的大小。

**1.2.2 *WT* 和 *YZ-7* 壳孢子及叶状体的耐低盐性测试** 壳孢子的耐低盐性测试: 将 *WT* 和 *YZ-7* 刚放散的壳孢子分别倒入五个小号培养皿( $\phi=6\text{cm}$ )中, 正常盐度(26)下静置培养 24h 后统计每个培养皿中单个视野的壳孢子平均数(30 个视野,  $10\times$ )(王华芝等, 2012), 然后将附有壳孢子的培养皿分别换入五种盐度为 26、15、8、5 和 3 的培养液中进行培养, 并将盛有壳孢子的小号培养皿放入中号培养皿( $\phi=9\text{cm}$ ), 再将两者一起放入已盛有一定蒸馏水的大号培养皿( $\phi=12\text{cm}$ )中, 以减少因培养液水分蒸发而引起的盐度增加, 光量子通量密度为  $40\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 其它培养条件同 1.2.1, 每隔 3d 更换一次培养液, 并观察壳孢子的存活及分裂情况, 培养 7d 后, 统计壳孢子的假根发生率。

叶状体的耐低盐性测试: 随机选取在正常盐度下(26)培养 35d 的 *WT* 和 *YZ-7* 叶状体各 50 棵(体长 4—7cm), 每 10 棵为一组置于培养瓶内, 分别在五种不同盐度(26、15、8、5 和 3)培养液中充气培养, 每隔 5d 更换一次培养液, 并测量一次叶状体的长度。

**1.2.3 *WT* 和 *YZ-7* 的  $F_1$  叶状体的特性分析** 叶绿素荧光活性的测定: 取正常盐度(26)下培养 35d 的 *WT* 和 *YZ-7* 叶状体(每个品系各 25 棵), 各分成 5 组,

分别在 26、15、8、5、3 盐度下再培养 5d, 培养条件同 1.2.1, 采用超便携式调制叶绿素荧光仪 Mini-PAM(Walz, Effeltrich, Germany)测定叶绿素荧光参数, 包括 PS II 最大光量子产量( $F_v/F_m$ )和实际光量子产量(Yield), 测量时将光纤探头垂直置于藻体表面,  $F_v/F_m$  和 Yield 值分别按以下公式计算求得(姚春燕等, 2011):

$$F_v/F_m=(F_m-F_0)/F_m;$$

$$\text{Yield}=\Delta F'/F_m'=(F_m'-F_i)/F_m';$$

公式中  $F_0$  是样品经暗适应 15min 后, 提供约  $0.3\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  的测量光测得的最小荧光值;  $F_m$  是获得  $F_0$  后再提供 0.8s、 $4000\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  的饱和脉冲后所测得的最大荧光值;  $F_i$  是使用  $0.3\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  的红光和  $40\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  的活化光后测得的样品当前稳态荧光值;  $F_m'$  是达到稳态时再施加 0.8s、 $4000\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  的饱和脉冲后测得的样品最大荧光值(张守仁, 1999)。

光合色素及蛋白的测定: 取正常盐度(26)下培养 35d 的 *WT* 和 *YZ-7* 叶状体(每个品系各 25 棵), 各分成 5 组, 分别放在不同盐度 26、15、8、5、3 下再培养 15d, 培养条件同 1.2.1, 测定叶状体的活体吸收光谱和叶绿素 *a*(chl *a*)、藻红蛋白(phycoerythrin, PE)和藻蓝蛋白(phycocyanin, PC)的含量。叶状体的活体吸收光谱和 chl *a* 含量的测定方法同 Aruga 等(1984), PE 和 PC 含量的测定方法同高洪峰(1993)。

## 2 结果

### 2.1 *WT* 和 *YZ-7* 叶状体圆盘的耐低盐性测试

如图 2a 所示, 在盐度 8 条件下培养 15d 后, *WT* 圆盘体颜色加深, 变厚, 略有卷曲, 长轴和短轴的长度之比接近 1 : 1, 生长基本停滞; *YZ-7* 圆盘体颜色略有加深, 由浅红色转变为暗红色, 表面略有色泽, 无卷曲, 长轴明显长于短轴, 生长较快。另外, *YZ-7* 圆盘体的面积明显大于 *WT*。据此初步判定 *YZ-7* 叶状体具有一定的耐低盐特性。

### 2.2 *WT* 和 *YZ-7* 壳孢子及壳孢子萌发体的耐低盐性

壳孢子的存活、分裂及假根萌发等情况能反映壳孢子和壳孢子萌发体的低盐耐受能力。在不同盐度下培养 2 周的 *YZ-7* 和 *WT* 的壳孢子, 在 26 盐度组存活率无显著差异; 在 15 盐度组, *YZ-7* 的壳孢子存活率和假根发生率分别比 *WT* 提高了 34% 和 35%; 在 8 和 5 盐度组, *YZ-7* 的壳孢子存活率、分裂率及假根发生率分别比 *WT* 提高了 65%、32% 和 62%, 以及 137%、80% 和 154%; 在 3 盐度组, *YZ-7* 的壳孢子存活率和分裂率

分别比 *WT* 提高了 458% 和 171%。具体结果如表 1 所示: *YZ-7* 壳孢子在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 2 周, 其存活率分别为 89.0%、87.0%、75.2%、38.6% 和 29.0%, 而 *WT* 壳孢子的存活率非常低, 分别为 79.9%、64.9%、45.5%、16.3% 和 5.2%, 各盐度组 *YZ-7* 壳孢子的存活率分别为 *WT* 的 1.1、1.3、1.7、2.4 和 5.6 倍, 尤其是 8、5 和 3 这三个低盐度组, *YZ-7* 壳孢子的存活率极显著地高于 *WT* ( $P < 0.01$ )。培养 2 周后, 这三个低盐度组中 *WT* 壳孢子的分裂率也很低, 分别只有 72.6%、50.9% 和 32.8%; 而 *YZ-7* 壳孢子的分裂率则分别为 95.7%、91.6% 和 89.0%, 两者差异为极显著 ( $P < 0.01$ ); 在 26 和 15 盐度组中, *YZ-7* 和 *WT* 壳孢子

的分裂率都很高, 分别为 100%、100% 和 100%、95.9%, 两者没有差异。*WT* 壳孢子在 15、8、5 和 3 盐度下培养 1 周时的假根萌发率分别为 67.4%、45.7%、21.6% 和 0%, 远低于正常盐度(26)组的假根萌发率(85.3%), 而 *YZ-7* 壳孢子在各盐度下的假根萌发率则分别为 90.7%、74.1%、54.9% 和 44.9%, 也低于正常盐度组(90.9%), 但均高于 *WT* 且降低的幅度小于 *WT*。在低盐条件下, 二者之间呈现显著性差异。在盐度 3 这个极端低盐度下, *WT* 壳孢子的假根基本不萌发, 而 *YZ-7* 仍有 44.9% 的壳孢子能萌发出假根。

从图 1a—e 可以看出, 培养 1 周的 *WT* 壳孢子及萌发体, 与正常 26 盐度组相比, 15 盐度组的细胞分裂

表 1 不同盐度下坛紫菜野生品系(*WT*)和选用品系(*YZ-7*)的壳孢子成活率和分裂率(14d)以及壳孢子苗的假根发生率(7d)  
Tab.1 Survival and division rates of conchospores (14d) and rhizoid germination rates of conchospore germlings (7d) of the wild-type strain (*WT*) and the improved strain (*YZ-7*) in *P. haitanensis* cultured at different salinities

盐度	存活率(%)		分裂率(%)		假根发生率(%)	
	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>
26	79.9±1.5	89.0±1.9*(1.1)	100	100(1.0)	85.3±1.9	90.9±2.4(1.1)
15	64.9±2.5	87.0±1.5*(1.3)	95.9±1.8	100(1.0)	67.4±1.2	90.7±4.3*(1.3)
8	45.5±3.6	75.2±2.3**(1.7)	72.6±2.7	95.7±1.1**(1.3)	45.7±1.9	74.1±4.9**(1.6)
5	16.3±1.7	38.6±3.0**(2.4)	50.9±3.1	91.6±0.6**(1.8)	21.6±1.2	54.9±1.9**(2.5)
3	5.2±1.2	29.0±2.1**(5.6)	32.8±2.8	89.0±1.0**(2.7)	0	44.9±1.9**

括号中的数字表示 *YZ-7* 各值与对应 *WT* 值的比值, \*表示差异显著 ( $P < 0.05$ , *t*-test), \*\*表示差异极显著 ( $P < 0.01$ , *t*-test)。



图 1 不同盐度下培养的坛紫菜野生品系(*WT*)和选用品系(*YZ-7*)的壳孢子萌发体

Fig.1 The conchospore germlings of the wild-type strain (*WT*) and the improved strain (*YZ-7*) in *Pyropia haitanensis* cultured at different salinities

a—e 分别为在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 1 周的 *WT* 壳孢子萌发体; f—j 分别为在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 1 周的 *YZ-7* 壳孢子萌发体; k—o 分别为在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 2 周的 *WT* 壳孢子萌发体; p—t 分别为在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 2 周的 *YZ-7* 壳孢子萌发体。图中标尺: a—o 为 25 $\mu$ m, p—t 为 50 $\mu$ m。

变慢, 8 盐度组的细胞分裂速度显著下降, 色素体颜色变淡, 5 盐度组的细胞分裂十分缓慢, 大部分壳孢子的假根无法形成, 3 盐度组的壳孢子细胞基本不分裂, 也无法形成假根。但是, 在各盐度下培养 1 周的 YZ-7 壳孢子及萌发体, 细胞分裂及其色素体颜色正常, 假根能正常形成和固着(图 1f—j)。

从图 1k—o 可以看出, 培养 2 周后, 26 盐度组的 WT 壳孢子萌发体颜色鲜艳、有光泽、形状规则、细胞排列均匀、星状色素体清晰可见; 15 盐度组的壳孢子苗的假根处细胞色素体收缩、部分细胞排列不均匀; 8 盐度组的壳孢子苗颜色加深、光泽差、苗体畸形、大部分细胞变小且色素体明显收缩、部分假根细胞死亡; 5 和 3 盐度组的壳孢子苗颜色更深, 无光泽、无假根、基部细胞全部死亡、只剩少量稍部细胞、苗体畸形。同样的培养条件和时间内, 各盐度组 YZ-7 壳孢子萌发体的生长明显优于 WT, 其中 5 盐度组的壳孢子萌发体颜色逐渐加深、部分细胞堆叠; 3 盐度组的壳孢子苗颜色更深、色素体收缩、假根腐烂且基部细胞部分死亡(图 1p—t)。

### 2.3 WT 和 YZ-7 叶状体对低盐的耐受性比较

将正常盐度下培养 35d 的 WT 和 YZ-7 叶状体转入 26、15、8、5、3 等五种盐度下继续培养 30d, 结果发现: 在各个盐度条件下, YZ-7 叶状体的特定生长率和绝对生长率均大于 WT 叶状体(表 2)。YZ-7 叶状体 30d 内的特定生长率分别为 9.65%/d、9.65%/d、6.80%/d、5.80%/d 和 5.08%/d, 而 WT 叶状体的为 5.60%/d、4.98%/d、4.59%/d、3.57%/d 和 3.23%/d, YZ-7

叶状体的特定生长率分别为 WT 的 1.7、1.9、1.5、1.6 和 1.6 倍。YZ-7 叶状体 30d 内的绝对生长率分别为 2.11 cm/d、2.01 cm/d、0.78 cm/d、0.55 cm/d 和 0.37 cm/d, 而 WT 叶状体的为 0.62 cm/d、0.49 cm/d、0.43 cm/d、0.28 cm/d 和 0.23 cm/d, YZ-7 叶状体的绝对生长率分别是 WT 的 3.4、4.1、1.8、2.0 和 1.6 倍。另外, 两个品系叶状体的特定生长率随盐度的下降而下降, 其中 WT 的下降幅度较 YZ-7 明显(表 2), 说明盐度降低对于 YZ-7 的影响要小于 WT 的叶状体。YZ-7 叶状体在各盐度组的生长均明显快于 WT, 其平均体长分别为 WT 的 2.9、3.4、1.6、1.7 和 1.4 倍。在不同盐度下培养 15d 后, 15 盐度组 YZ-7 叶状体的生长率开始高于 26 盐度组; 培养 30d 后, 两组叶状体的平均体长接近, 35d 后 15 盐度组开始长于 26 盐度组并一直保持; 而同样条件下 26 盐度组的 WT 叶状体 30d 时的长度是 15 盐度组的 1.2 倍。培养 5d 后, 各盐度组的 WT 叶状体开始成熟; 从图 2b—c 可以看出, 培养 25d 后, 26 和 15 盐度组的 WT 叶状体稍部成熟细胞脱落, 藻体发白, 基部细胞仍呈浅绿色, 藻体色泽好, 有弹性; 而在盐度 8、5 和 3 三个低盐组中, 从图 2d—f 可以看出, 藻体颜色加深、发黄、变厚、无光泽、无弹性。从图 2g—k 可以看出, 随着盐度的降低, YZ-7 叶状体的颜色也会加深, 8、5 和 3 三个低盐组下培养 25d, 藻体颜色仍鲜艳, 有光泽, 仍具有较好的弹性。

### 2.4 不同盐度条件对叶状体叶绿素荧光活性的影响

WT 和 YZ-7 幼苗在 26 盐度下培养 35d 后, 再在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 5d, 叶绿素荧光参数

表 2 不同盐度下坛紫菜野生品系(WT)和选用品系(YZ-7)叶状体的生长率

Tab.2 The blades growth rates of the wild-type strain (WT) and the improved strain (YZ-7) in *P. haitanensis* cultured at different salinities

生长率	培养时间 (d)	WT					YZ-7				
		26	15	8	5	3	26	15	8	5	3
特定生长率 (%/d)	35—40	13.51	12.56	11.73	8.52	8.27	16.06	14.26	13.34	11.04	10.59
	41—45	7.26	6.59	6.17	5.39	5.23	9.21	8.93	6.67	6.43	5.91
	46—50	3.77	3.19	3.11	3.02	2.98	10.98	9.73	8.57	6.27	4.46
	51—55	3.86	2.91	2.84	2.11	1.22	7.51	10.06	5.26	5.12	3.93
	56—60	3.04	2.58	2.49	1.58	1.01	8.63	9.60	3.55	2.82	2.90
	61—65	2.14	2.02	1.21	0.77	0.69	5.51	5.31	3.38	3.12	2.70
绝对生长率 (cm/d)	35—40	0.82	0.74	0.68	0.46	0.43	0.91	0.73	0.66	0.52	0.50
	41—45	0.73	0.62	0.56	0.41	0.38	0.97	0.81	0.54	0.47	0.42
	46—50	0.50	0.38	0.35	0.28	0.26	1.92	1.41	1.02	0.62	0.41
	51—55	0.62	0.41	0.38	0.23	0.12	2.07	2.39	0.88	0.68	0.38
	56—60	0.58	0.41	0.38	0.19	0.11	3.56	3.72	0.74	0.45	0.25
	61—65	0.47	0.36	0.20	0.10	0.08	3.22	2.97	0.83	0.58	0.23



图 2 不同盐度下坛紫菜野生品系(WT)和选育品系(YZ-7)叶状体圆盘及叶状体幼苗的生长情况

Fig.2 Growth of blade discs from the 40d aged blades of the wild-type strain (WT) and the improved strain (YZ-7) in *P. haitanensis* and the 35d aged F<sub>1</sub> gametophytic blades cultured at different salinities

a. 在正常盐度 26 下培养 40d 后取圆盘在 8 盐度下培养 15d 的情况: 1、2 为 WT, 3、4 为 YZ-7; b—k. 正常盐度下培养 35d 的幼苗分别在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 25d 的叶状体: b-f 为 WT; g-k 为 YZ-7。

的测定结果表明: 两个品系的 Yield 值均随盐度的降低而下降, YZ-7 分别降至初始值的 96%、94%、84%、75%和 60%, WT 的下降幅度大于 YZ-7, 分别降为初始值的 91%、67%、64%、59%和 50%(表 3); 与 Yield 值变化规律不同的是, YZ-7 和 WT 的  $F_v/F_m$  值在 26、

15 和 8 盐度组下无显著下降, 而在 5 和 3 盐度组中下降明显, 分别为初始值的 89%、76%和 83%、60%(表 4)。不论是 Yield 还是  $F_v/F_m$ , YZ-7 的值均大于对应组的 WT, 且在不同盐度下胁迫 5d 后, YZ-7 各参数值的下降幅度均小于 WT。

表 3 坛紫菜野生品系(WT)和选育品系(YZ-7)在正常盐度 26 下培养 35d 的幼苗再在不同盐度下培养 5d 后的实际光量子产量

Tab.3 Actual quantum yield of photosystem II of the blades of wild-type strain (WT) and improved strain (YZ-7) in *P. haitanensis* cultured at different salinities for 5 days after cultured at the normal salinity of 26 for 35 days

盐度	实际光量子产量 Yield			
	WT		YZ-7	
	初始值	胁迫值	初始值	胁迫值
26	0.316±0.008	0.286±0.012(91)	0.347±0.003	0.334±0.012(96)
15	0.315±0.008	0.212±0.011(67)	0.347±0.002	0.326±0.008(94)
8	0.312±0.010	0.200±0.007(64)	0.347±0.006	0.293±0.013(84)
5	0.313±0.006	0.185±0.007(59)	0.346±0.009	0.261±0.006(75)
3	0.314±0.012	0.156±0.013(50)	0.344±0.011	0.205±0.004(60)

括号中的值表示各品系的胁迫值与初始值的百分比

表 4 坛紫菜野生品系(WT)和选育品系(YZ-7)在正常盐度 26 下培养 35d 的幼苗再在不同盐度下培养 5d 后的最大光量子产量

Tab.4 Maximum quantum yield of photosystem II of the blades of wild-type strain (WT) and improved strain (YZ-7) in *P. haitanensis* cultured at different salinities for 5 days after cultured at the normal salinity of 26 for 35 days

盐度	最大光量子产量 $F_v/F_m$			
	WT		YZ-7	
	初始值	胁迫值	初始值	胁迫值
26	0.641±0.015	0.633±0.002(99)	0.657±0.004	0.657±0.003(100)
15	0.641±0.013	0.624±0.007(98)	0.660±0.003	0.654±0.004(100)
8	0.639±0.005	0.620±0.007(97)	0.665±0.008	0.664±0.009(100)
5	0.639±0.009	0.531±0.007(83)	0.654±0.001	0.584±0.007(89)
3	0.641±0.008	0.382±0.006(60)	0.652±0.002	0.498±0.006(76)

括号中的值表示各品系的胁迫值与初始值的百分比

## 2.5 不同盐度条件对叶状体活体吸收光谱和主要光合色素含量的影响

WT 和 YZ-7 幼苗在正常盐度(26)下培养 35d 后, 再在 26、15、8、5 和 3 盐度下培养 15d, 各组叶状体的活体吸收光谱在波长 350—750nm 均存在五个明显的吸收高峰, 与在正常盐度下培养的叶状体一样; 另外, 各峰值所处的波长也与正常盐度下相同, 但是五个吸收峰的峰值均为低盐组高于高盐组, 而且随着盐度的降低, 各吸收峰的峰值均呈上升趋势。如图 3a 所示: WT 叶状体在 26 和 15 盐度组的吸收峰值较低, 8 盐度组峰值开始急剧上升, 5、3 两个低盐组的峰值依次上升, 无任何杂峰; 如图 3b 所示: YZ-7 叶状体在 26 和 15 盐度组的峰值较高, 8 盐度组的峰值有一定的上升, 但不明显; 与 WT 不同的是, 15 盐度组下 YZ-7 的峰值略低于 26 盐度组。

WT 和 YZ-7 的 PE 和 PC 含量均随盐度的下降而升高, 而 chl *a* 含量随盐度的下降而下降; YZ-7 各盐度组的 chl *a*、PE 和 PC 含量均高于 WT, 且总藻胆蛋白含量与 WT 相比均呈显著性差异。另外, 与 WT 不同的是, 15 盐度组 YZ-7 的总藻胆蛋白含量低于 26 盐度组, 但差异不显著(表 5)。

## 3 讨论

### 3.1 WT 与 YZ-7 壳孢子低盐耐受性的比较

坛紫菜是一种生活在潮间带的海藻, 在有淡水流入的海域生长较好(黄海水产研究所紫菜组, 1979; 福建省水产局, 1979)。但是, 对于野生坛紫菜的耐低盐性没有一个定量和定性的观察和分析。本研究发现坛紫菜野生品系对盐度变化表现较为敏感, 当培养盐度降至 8 及以下时, 其壳孢子存活

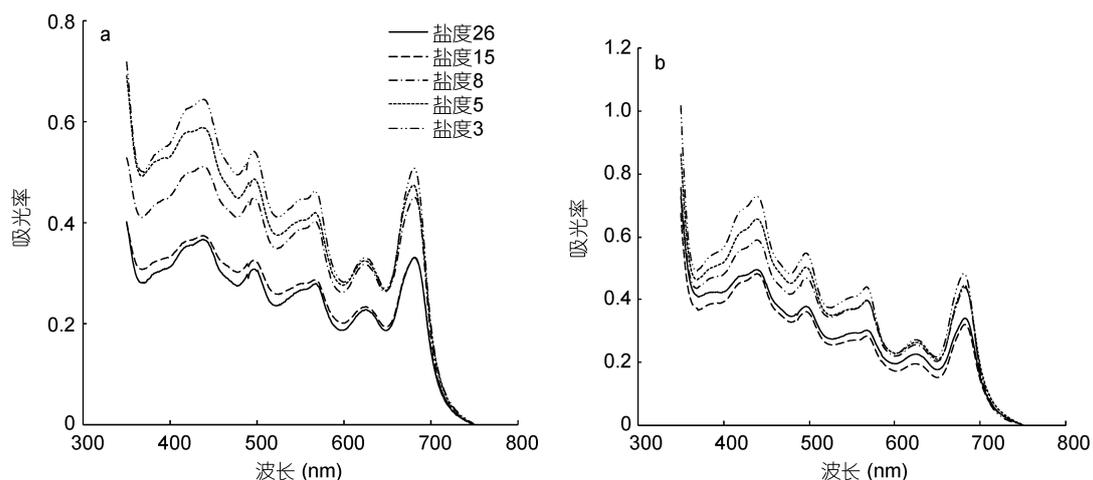


图 3 坛紫菜野生品系(WT, a)和选育品系(YZ-7, b)叶状体在正常盐度 26 下培养 35d 后再在不同盐度下培养 15d 后的活体吸收光谱

Fig.3 In vivo absorption spectra of gametophytic blades of wild-type strain (WT, a) and improved strain (YZ-7, b) in *P. haitanensis* cultured at 26 for 35 days and cultured at different salinities for another 15 days

表 5 坛紫菜野生品系(*WT*)和选育品系(*YZ-7*)在正常盐度 26 下培养 35d 的幼苗再在不同盐度下培养 5d 后的主要光合色素含量变化

Tab.5 Contents of major photosynthetic pigments of the blades of wild-type strain (*WT*) and improved strain (*YZ-7*) in *P. haitanensis* cultured at different salinities for 5 days after cultured at the normal salinity of 26 for 35 days

盐度	藻红蛋白(mg/g)		藻蓝蛋白(mg/g)		叶绿素 <i>a</i> (mg/g)		总藻胆蛋白(mg/g)	
	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>	<i>WT</i>	<i>YZ-7</i>
26	17.5±1.7	24.4±5.3	9.2±1.4	22.4±2.9	6.7±0.3	6.8±0.2	33.4	53.6**
15	19.9±0.5	23.9±3.1	12.9±0.7	19.2±1.6	6.4±0.5	6.5±0.2	39.2	49.6**
8	23.4±1.3	28.9±5.3	15.7±1.0	26.3±4.7	6.2±0.2	6.3±0.3	45.4	61.5*
5	25.2±1.2	28.8±0.5	16.6±0.5	26.4±0.5	5.7±0.2	5.9±0.2	47.5	61.1*
3	27.2±1.7	31.5±1.3	16.7±0.5	28.0±2.1	4.8±0.1	4.9±0.1	48.7	64.4*

\*表示 *YZ-7* 总藻胆蛋白含量与 *WT* 相比差异显著( $P<0.05$ , *t*-test), \*\*表示差异极显著( $P<0.01$ , *t*-test)

率显著下降。严兴洪等(1993a)研究发现,当盐度低于 19.6 时条斑紫菜野生品系叶状体的营养细胞存活率显著降低。低盐下存活的壳孢子萌发体中大部分只有 1—2 个细胞,且无极性的分化,可能是低盐导致已经分裂的一部分细胞因吸水膨胀而破裂,造成分裂率急剧下降。严兴洪等(2008a)研究也发现坛紫菜野生品系的体细胞在 8 盐度下培养 6d 后开始吸水膨胀,细胞内色素体以外的空隙明显增大。本研究发现突变品系 *YZ-7* 的壳孢子在 8 盐度下仍有 75.2% 能正常生长,其中 95.7% 的壳孢子能正常分裂,可能是藻体通过改变液泡内的离子浓度进行渗透压调节,以适应外界环境的变化,具体原因有待进一步研究。

紫菜的假根来源于壳孢子第一次细胞分裂时产生的两个极性细胞之一,假根的发生和发育直接决定了藻体能否牢固附着,生活下去。汪文俊等(2009)研究海带假根发育时发现只有孢子体尽快分化出发达假根,才能附着牢固,使植株不在风浪和水流等外力的冲击下脱离基质;严兴洪等(1993b)研究也发现当盐度低于 26.8 时坛紫菜体细胞苗的假根形成受到抑制。本实验结果也表明,低盐会直接抑制坛紫菜壳孢子的假根形成,在 5 盐度组,*WT* 壳孢子的正常假根发生率只有正常盐度组的 25.3%,3 盐度组下假根基本不萌发。如果在刚下过暴雨或在低盐度的海区进行坛紫菜野生品系壳孢子的海上采苗工作,有可能导致壳孢子因假根无法正常萌发,附网不牢而流失,影响产量。选育品系 *YZ-7* 壳孢子在 5 盐度下的正常假根发生率高,是 *WT* 的 2.5 倍,在 3 盐度组,仍有 44.9% 的壳孢子假根正常发育,说明它有较强的耐低盐特性。

### 3.2 *WT* 与 *YZ-7* 叶状体低盐耐受性的比较及特性差异

$F_v/F_m$  是 PS II 最大光化学量子产量的值,反映了

PS II 原初光能转化效率,非胁迫条件下该参数的变化极小;Yield 反映了当 PS II 反应中心部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率,由叶片不经过暗适应在光下直接测得(张守仁,1999)。本研究发现,在正常盐度下 *YZ-7* 品系的  $F_v/F_m$  和 Yield 均高于 *WT* 品系,说明该 *YZ-7* 叶状体在正常盐度下光合效率更高,生长更快。而随着盐度的下降,*WT* 叶状体的  $F_v/F_m$  和 Yield 均逐渐下降,特别是在 3 盐度组,分别只有初始值的 60% 和 50%,说明低盐胁迫可能对 PS II 产生了伤害,使 PS II 的光化学活性及能量转换率下降。饶本强等(2010)发现盐胁迫导致集球藻的生物量和光合活性明显下降;陈兰周等(2003)也发现盐胁迫显著抑制了爪哇伪枝藻(*Scytonema javanicum*)的生长和光合活性,梁英等(2006)研究发现盐胁迫能对塔胞藻 PS II 产生伤害。与 *WT* 不同,*YZ-7* 叶状体在 8 盐度条件下胁迫处理 5d 后, $F_v/F_m$  保持不变,说明 *YZ-7* 品系在 8 盐度下基本不受胁迫或受胁迫较小。由于藻类对盐度变化响应的机制十分复杂,仅从某一个方面去研究是远远不够的,还有待于进一步研究。

Chl *a*、PE 和 PC 是坛紫菜的主要光合色素和色素蛋白,其含量高低是衡量商品干紫菜品质的重要指标(董宏坡等,2004)。在正常盐度下,*YZ-7* 活体吸收光谱吸收峰值以及 chl *a*、PE 和 PC 的含量均高于 *WT*,这应该是 *YZ-7* 在正常盐度下生长更快的原因之一。但随着盐度降低,*WT* 叶状体的 PE 和 PC 含量都逐渐升高,而 chl *a* 含量却逐渐下降,说明低盐胁迫使 chl *a* 的合成受到抑制(张志刚等,2010),也可能是低盐胁迫下捕光色素蛋白复合体和反应中心复合体受损伤或部分降解而导致的(梁英等,2006)。与 *WT* 不同,*YZ-7* 叶状体在 15 盐度组下其 PE 和 PC 含量低于 26 盐度组,可能是因为 *YZ-7* 经  $\gamma$  射线诱变后最适盐度发生了改变,其详细的机理还有待于进一步的研究。

从叶状体的低盐耐受性结果来看,野生品系的幼叶状体(35d)在三个低盐组下生长缓慢,在 8 盐度培养 30d,体长只增加了 4 倍,藻体的颜色变黄、变厚、无光泽,在 5 和 3 盐度下没有出现腐烂、卷曲现象,说明低盐对叶状体细胞分裂的影响较大,但是壳孢子在极低盐度下死亡率较高,可能是因为叶状体外面有胶质层的保护,而壳孢子外没有胶质层,容易受到低渗的影响而吸水涨破。相同条件下,YZ-7 叶状体增长了 7.6 倍,生长优势与 WT 相比极为明显,藻体颜色鲜艳、有光泽,显示出很强的耐低盐性。本研究结果说明 YZ-7 品系在耐低盐性、藻体的颜色、光合色素含量、生长速度等方面均明显优于 WT 品系,有望应用于栽培并被培育成耐低盐的紫菜良种。

### 参 考 文 献

- 马家海,蔡守青,1996. 条斑紫菜的栽培与加工. 北京: 科学出版社, 1—13
- 王长青,严兴洪,黄林彬等,2011. 坛紫菜优良品系“申福2号”的特性分析与海区中试. 水产学报, 35(11): 1658—1667
- 王华芝,严兴洪,李琳,2012. 条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)耐高温品系的筛选及特性分析. 海洋与湖沼, 43(2): 1—8
- 王素娟,张小平,徐志东等,1986. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究. 海洋与湖沼, 17(3): 217—221
- 吕峰,严兴洪,刘长军等,2010. 坛紫菜耐高温品系的选育与海区中试. 上海海洋大学学报, 19(4): 457—462
- 严兴洪,江海波,1993a. 盐度对条斑紫菜体细胞生长发育的影响及耐低盐度变异体的初步观察. 上海水产大学学报, 2(1): 34—40
- 严兴洪,王素娟,1993b. 温度、光强和盐度对坛紫菜体细胞发育的影响. 热带海洋, 12(1): 94—99
- 严兴洪,宋武林,梁志强等,2005. 坛紫菜人工色素突变体的诱变与分离. 水产学报, 29(2): 166—172
- 严兴洪,陈敏,2008a. 坛紫菜耐低盐优良品系的筛选. 上海水产大学学报, 17(3): 316—320
- 严兴洪,黄林彬,周晓等,2008b. 坛紫菜叶状体的细菌性红烂病研究. 中国水产科学, 15(2): 313—319
- 汪文俊,孙修涛,王飞久等,2009. 光质对海带幼孢子体生长和假根发育的影响. 渔业科学进展, 30(5): 113—118
- 宋武林,2009. 坛紫菜烂苗原因分析及预防对策. 福建水产, (2): 72—75
- 张守仁,1999. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. 植物学通报, 16(4): 444—448
- 张志刚,尚庆茂,2010. 低温、弱光及盐胁迫下辣椒叶片的光合特性. 中国农业科学, 43(1): 123—131
- 陈兰周,刘永定,李敦海等,2003. 盐胁迫对爪哇伪枝藻(*Scytonema javanicum*)生理生化特性的影响. 中国沙漠, 23(3): 285—288
- 饶春强,李敦海,刘永定等,2010. 稀土元素 Ce 对爪哇伪枝藻盐胁迫耐受性的影响. 农业环境科学学报, 29(9): 1693—1701
- 姚春燕,姜红霞,朱建一等,2011. 温度胁迫对紫菜丝状体叶绿素荧光特性的影响. 江苏农业科学, (1): 277—282
- 高洪峰,1993. 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化. 海洋与湖沼, 24(6): 645—648
- 黄海水产研究所紫菜组,1979. 坛紫菜与条斑紫菜养殖. 北京: 农业出版社, 58—59
- 梁志强,2004. 坛紫菜遗传育种的初步研究. 上海: 上海水产大学硕士学位论文, 10—11
- 梁英,冯力霞,田传远等,2006. 盐胁迫对塔胞藻生长及叶绿素荧光动力学的影响. 中国海洋大学学报, 36(5): 726—732
- 董宏坡,左正宏,王重刚等,2004. 福建省平潭海区坛紫菜品质性状的分析. 厦门大学学报(自然科学版), 43(5): 693—696
- 游华,1999. 平潭县坛紫菜养殖现状与发展对策. 水产科技情报, 26(6): 272—273
- 福建省水产局,1979. 坛紫菜人工养殖. 福州: 福建人民出版社, 78—79
- Aruga Y, Miura A, 1984. In vivo absorption spectra and pigment contents of the two types of color mutants of *Porphyrapurpurea*(Rhodophyta). Jap J Phycol, 32(3): 243—250
- Kato M, Aruga Y, 1984. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture. Jap J Phycol, 32(3): 333—347

## SELECTION AND CHARACTERIZATION OF A LOW-SALINITY TOLERANT STRAIN IN *PYROPIA HAITANENSIS* (BANGIALES, RHODOPHYTA)

TAN Ying-Hua<sup>1</sup>, HUANG Lin-Bin<sup>1,2</sup>, YAN Xing-Hong<sup>1,2</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, 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** A low-salinity tolerant strain (YZ-7) was selected by artificial mutagenesis in our laboratory. The tolerance of YZ-7 conchospores and F<sub>1</sub> gametophytic blades to low-salinities was studied against the wild-type (*WT*) as the control in salinities of 26, 15, 8, 5, and 3 for 2 weeks. The results show no significant difference in survival rate between YZ-7 and *WT* at normal salinity 26. In the 15 salinity group, the survival rates and the rhizoid germination rates of YZ-7 conchospore germlings were 34% and 35% higher than those of control, respectively. In 8 and 5 salinity groups, the survival rates and division rates of conchospores, and the rhizoid germination rates were 65% and 137%, 32% and 80%, 62% and 154% higher than those of the control, respectively. In the group of lowest salinity at 3, the survival rates and division rates of YZ-7 conchospores were 458% and 171% higher than those of control, respectively, and 44.9% of YZ-7 but zero *WT* conchospore germlings had rhizoid germinated. In addition, we took YZ-7 blades that cultured in normal salinity 26 for 35 d and then transferred them into different salinities for another 30 days in the same salinity spectra mentioned above. The results show that the absolute growth rates of YZ-7 blades were 6.85, 8.24, 4.15, 5.80, and 2.88 times higher; specific growth rates were 2.57, 2.63, 2.79, 4.05, and 3.90 higher than those of *WT*, respectively to the salinities. In chlorophyll fluorescence activities ( $F_v/F_m$  and Yield) and contents of three main photosynthetic pigments (chl *a*, PE, and PC), those of YZ-7 blades were significantly higher than those of *WT*. Therefore, YZ-7 were proved as a low-salinity-tolerant fast-growing strain whose traits could be passed onto the next generation, and be a potential new cultivar.

**Key words** *Pyropia haitanensis*; new strain; low-salinity tolerant; F<sub>1</sub> gametophytic blade; conchospore