

吕峰,周爽.低盐胁迫下条斑紫菜不同品系体细胞与壳孢子的耐受性差异[J].江苏农业科学,2015,43(2):221-224,229.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.072

# 低盐胁迫下条斑紫菜不同品系体细胞与壳孢子的耐受性差异

吕峰,周爽

(南通科技职业学院,江苏南通 226007)

**摘要:**以条斑紫菜野生品系 WT 为对照,对条斑紫菜选育品系 NY-001 的体细胞与壳孢子阶段的耐低盐特性进行测定,结果表明:在正常盐度(2.6%)下培养 14 d,WT、NY-001 品系条斑紫菜的体细胞苗与壳孢子萌发体的存活率与分裂率均无显著差异;在 1.5% 下培养 14 d,WT 品系条斑紫菜体细胞的存活率、分裂率分别为 62.8%、98.8%,而 NY-001 品系的存活率、分裂率则分别为 77.4%、100.0%,WT 品系的壳孢子存活率、分裂率分别为 63.9%、96.8%,而 NY-001 品系的存活率、分裂率则分别为 88.0%、100.0%;在 0.8% 盐度条件下培养 14 d 的 WT 条斑紫菜品系体细胞存活率分别为 38.5%、88.6%,而 NY-001 品系的存活率、分裂率则分别为 52.3%、99.6%,WT 品系的壳孢子存活率、分裂率分别为 44.5%、71.4%,而 NY-001 品系的存活率、分裂率则分别为 76.2%、96.7%;在 0.3% 盐度条件下培养 14 d 的 WT 品系条斑紫菜的体细胞存活率、分裂率分别为 30.2%、74.2%,而 NY-001 品系的存活率、分裂率则为 33.3%、98.7%,WT 品系的壳孢子存活率、分裂率分别为 5.2%、28.8%,而 NY-001 品系的存活率、分裂率则分别为 29.6%、85.2%。由结果分析可知:与野生品系相比,NY-001 品系条斑紫菜具有较好的耐低盐潜力,可以在此基础上进一步选育,以选拔出适合低盐海区养殖的条斑紫菜新品种,为养殖生产服务。

**关键词:**低盐胁迫;条斑紫菜;壳孢子;耐受性;体细胞;盐度;存活率;分裂率

**中图分类号:** Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)02-0221-04

潮间带是一个条件变化频率特别高的环境,生活在潮间带的海藻,每天都要经受着露出、淹没的陆、水 2 种环境的变化:落潮时暴露在大气中经受干旱失水或雨水浸洗,使盐度迅速增加或降低;潮水上涨后又回到正常的海水中正常生活,因此能够耐受较为广泛的盐度<sup>[1]</sup>。条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)是生活在潮间带的一种广盐性海藻,在 2.6%~3.3% 的盐度范围内都能正常生长,适合在不同盐度的海域栽培<sup>[2]</sup>;但当栽培海域盐度降至 2.6% 以下时,由于条斑紫菜野生品系经过几十年的重复使用而未经选育,其表现较为敏感。近些年来,在紫菜海区栽培期间,经常遭遇强台风及河流上游持续性的强降雨,导致表层海水的盐度急剧下降,造成一定量的孢子苗脱网和幼苗死亡,对产量的影响较大<sup>[3]</sup>,加上目前条斑紫菜野生栽培种已经无法适应河口等低盐度海区,亟待育种改良。此外,我国海岸的一个主要特点是河口众多、淤泥质海岸分布广泛<sup>[2]</sup>,十分适合紫菜的栽培。因此,条斑紫菜耐低盐优良品系的选育既能保证大规模栽培的顺利进行,又有利于其向低盐度入海河口区扩展,从而缓解传统栽培海区的栽培压力;此外,对于像南通市洋口港等富营养化严重的低盐度海湾地区的生态修复也能起到积极作用。本研究结合<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线人工诱变、低盐胁迫和细胞工程育种等方法筛选到 1 个条斑紫菜耐低盐突变体 NY-001,在其生活史的

同阶段,叶状体细胞和 F<sub>1</sub> 代壳孢子均表现出一定的耐低盐性,可以作为耐低盐品系继续选育并应用于生产。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

本试验所用条斑紫菜野生品系(WT)由江苏省如东县海区半浮动筏上自然生长的叶状体中分离出来,并以自由丝状体的形式保存于笔者所在实验室内,保存条件参照相关文献<sup>[4]</sup>。条斑紫菜突变体 NY-001 是以 WT 叶状体为材料,经<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线人工诱变<sup>[5]</sup>和低盐胁迫后筛选获得的,其丝状体纯系分离和保存方法同 WT。

### 1.2 条斑紫菜贝壳丝状体及叶状体的室内培养方法

1.2.1 贝壳丝状体的室内培养方法 取适量的自由丝状体,加入少量灭菌海水后倒入小型打碎机中,将其打碎后均匀地洒在事先高温灭菌的文蛤壳表面,使其植入壳内。培养条件:盐度 2.6%,温度(18±1)℃,光照度 20~30  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光-暗周期 10 h-14 h,培养液由灭菌海水和 MES 培养基配制而成。培养 14 d 后第 1 次清洗贝壳,将其表面多余的自由丝状体除去,加入新鲜培养液,以后每隔 7 d 清洗 1 次。培养数周后,待贝壳表面长满丝状体时,将培养温度提高至(22±1)℃,光照度降至 10~20  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光-暗周期调整为 8 h-16 h,培养液盐度不变。约 4 周后,贝壳表面就会形成 1 层膨大藻丝。

1.2.2 叶状体的室内培养方法 取 1~2 个上述长满膨大藻丝的贝壳置于 500 mL 烧杯中,加入约 100 mL 培养液和 4~6 根灭菌棉线(供壳孢子附着),在正常盐度下(2.6%)充气培养

收稿日期:2014-04-23

基金项目:江苏省南通市科技创新计划(农业)(编号:AL2010003)。

作者简介:吕峰(1979—),男,江苏南通人,博士研究生,讲师,主要从事海洋经济动植物遗传育种研究。E-mail:prl2019@163.com。

(促进壳孢子的放散),培养条件为:温度( $18 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,光照度 $50 \sim 60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光-暗周期 $10 \text{ h} - 14 \text{ h}$ 。每天 $12:00$ (壳孢子一般在 $10:00$ 开始放散)取出棉线镜检,当棉线上附有壳孢子时,将其置于 $500 \text{ mL}$ 充气瓶中充气培养。当叶状体长至约 $1 \text{ cm}$ 时,将它们从棉线上摘下,继续充气培养,1周换1次培养液,培养条件:温度( $18 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,光照度 $50 \sim 60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光-暗周期 $10 \text{ h} - 14 \text{ h}$ 。

### 1.3 WT和NY-001体细胞对低盐胁迫的耐受性检验

将日龄为 $40 \text{ d}$ 的WT和NY-001的叶状体用海螺酶酶解分离出体细胞,方法同相关文献<sup>[6]</sup>。将各品系分离得到的单个体细胞分别置于小号培养皿(直径= $6 \text{ cm}$ )内,培养液盐度为 $4.0\%$ ,静止 $72 \text{ h}$ 后,记录每个培养皿内的体细胞数( $30$ 个视野, $10 \times$ ),获得单个视野的体细胞平均数,然后在盛有细胞的培养皿中分别换入 $0.3\%$ 、 $0.8\%$ 、 $1.5\%$ 、 $2.6\%$ 4种不同盐度的培养液进行培养,并将盛有细胞的小号培养皿放入中号培养皿(直径= $9 \text{ cm}$ )中,再将两者一起放入已盛有一定蒸馏水的大号培养皿(直径= $12 \text{ cm}$ )中,以减少因培养液水分蒸发而引起的盐度增大<sup>[3]</sup>,光照度为 $40 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,其他培养条件同“1.2”节。每隔 $3 \text{ d}$ 换1次培养液,并观察1次体细胞的存活、分裂情况。

### 1.4 WT和NY-001壳孢子对低盐胁迫的耐受性检验

将各品系刚放散的壳孢子分别倒入4个小号培养皿(直径= $6 \text{ cm}$ )中,在正常盐度( $2.6\%$ )下静止培养 $24 \text{ h}$ 后统计每个培养皿中单个视野的平均壳孢子数( $30$ 个视野, $10 \times$ )<sup>[7]</sup>,然后在附有壳孢子的培养皿中分别换入 $0.3\%$ 、 $0.8\%$ 、 $1.5\%$ 、 $2.6\%$ 盐度的培养液进行培养,不同盐度的培养液由海水、蒸馏水、MES培养基配制而成<sup>[3]</sup>,然后将盛有壳孢子的小号培养皿放入中号培养皿(直径= $9 \text{ cm}$ )中,再将两者一起放入已盛有一定蒸馏水的大号培养皿(直径= $12 \text{ cm}$ )中,以减少因培养液水分蒸发而引起的盐度增大<sup>[3]</sup>,培养条件:温度 $24 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,光照度 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光-暗周期 $10 \text{ h} - 14 \text{ h}$ ,每隔 $3 \text{ d}$ 换1次培养液,并观察壳孢子的存活、分裂情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 WT与NY-001体细胞对低盐胁迫的耐受性比较

由表1可见,在正常盐度( $2.6\%$ )下培养 $14 \text{ d}$ ,野生品系和耐低盐品系NY-001的体细胞苗存活率无显著差异,培养 $14 \text{ d}$ 的存活率分别为 $80.5\%$ 、 $81.2\%$ 。由表2可见,在正常盐度( $2.6\%$ )下培养 $5 \text{ d}$ ,各品系分裂率均能在 $60\%$ 左右;培养 $11 \text{ d}$ ,分裂率已接近 $100\%$ ;培养 $14 \text{ d}$ ,2个品系的分裂率均可以达到 $100\%$ ,且无显著性差异。由表1还可以看出,在 $1.5\%$ 盐度条件下培养 $5 \text{ d}$ ,各品系体细胞存活率均为 $90\%$ 左右,且差异不显著;而培养 $11 \text{ d}$ 后,WT体细胞存活率下降明显,只有 $68.4\%$ ;培养 $14 \text{ d}$ 后,WT存活率只有 $62.8\%$ ,而耐低盐品系NY-001的存活率则为 $77.4\%$ ,两者相比差异显著( $P < 0.05$ )。由表2可见, $1.5\%$ 盐度条件下,分裂率随着培养时间的延长而逐渐上升,到培养 $14 \text{ d}$ ,WT的分裂率为 $98.8\%$ ,耐低盐品系NY-001的分裂率达到 $100.0\%$ ,但二者之间无显著性差异。

由表3、表4可以看出,在 $0.8\%$ 下,2个条斑紫菜品系的体细胞存活率随着时间的增加下降趋势明显,尤其是WT品

表1 在 $1.5\%$ 、 $2.6\%$ 盐度条件下培养的条斑紫菜WT与NY-001品系的体细胞存活率

培养时间(d)	不同盐度下的存活率(%)			
	1.5%		2.6%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	100.0	100.0	100.0	100.0
5	88.4 $\pm$ 6.3	90.5 $\pm$ 2.3	91.6 $\pm$ 2.6	91.8 $\pm$ 1.9
8	73.3 $\pm$ 3.5	83.0 $\pm$ 4.1	86.3 $\pm$ 3.3	83.2 $\pm$ 3.2
11	68.4 $\pm$ 2.7	80.6 $\pm$ 4.4*	81.2 $\pm$ 1.8	81.8 $\pm$ 2.0
14	62.8 $\pm$ 2.3	77.4 $\pm$ 3.4*	80.5 $\pm$ 0.7	81.2 $\pm$ 0.5

注:数据后标有“\*”“\*\*”分别表示不同品系间经 $t$ 检验差异显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )。表2至表8同。

表2 在 $1.5\%$ 、 $2.6\%$ 下培养的条斑紫菜WT与NY-001品系的体细胞分裂率

培养时间(d)	不同盐度下的分裂率(%)			
	1.5%		2.6%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	0	0	0	0
5	46.5 $\pm$ 6.2	65.7 $\pm$ 5.2*	56.4 $\pm$ 4.3	69.4 $\pm$ 6.6*
8	77.3 $\pm$ 2.0	88.6 $\pm$ 4.5*	85.3 $\pm$ 5.6	91.2 $\pm$ 5.6*
11	92.8 $\pm$ 1.5	98.9 $\pm$ 1.0*	96.3 $\pm$ 5.4	99.5 $\pm$ 1.1*
14	98.8 $\pm$ 1.2	100.0	100.0	100.0

表3 在 $0.3\%$ 、 $0.8\%$ 下培养的条斑紫菜WT与NY-001品系的体细胞存活率

培养时间(d)	不同盐度条件下的存活率(%)			
	0.3%		0.8%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	100.0	100.0	100.0	100.0
5	78.2 $\pm$ 6.0	73.3 $\pm$ 1.4*	82.7 $\pm$ 65.0	81.9 $\pm$ 1.6
8	47.6 $\pm$ 1.5	50.6 $\pm$ 2.5*	56.7 $\pm$ 5.2	63.8 $\pm$ 3.3*
11	36.7 $\pm$ 1.8	38.4 $\pm$ 6.0*	45.6 $\pm$ 2.7	55.8 $\pm$ 3.2*
14	30.2 $\pm$ 2.2	33.3 $\pm$ 3.1*	38.5 $\pm$ 3.1	52.3 $\pm$ 4.5*

表4 在 $0.3\%$ 、 $0.8\%$ 下培养的条斑紫菜WT与NY-001品系的体细胞分裂率

培养时间(d)	不同盐度条件下的分裂率(%)			
	0.3%		0.8%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	0	0	0	0
5	15.2 $\pm$ 3.5	38.4 $\pm$ 2.4**	33.2 $\pm$ 6.5	55.4 $\pm$ 2.0**
8	34.0 $\pm$ 2.6	67.6 $\pm$ 2.3**	67.8 $\pm$ 3.7	84.3 $\pm$ 1.6**
11	60.8 $\pm$ 5.9	91.7 $\pm$ 3.0**	79.8 $\pm$ 5.3	97.1 $\pm$ 1.3**
14	74.2 $\pm$ 6.8	98.7 $\pm$ 1.8**	88.6 $\pm$ 6.0	99.6 $\pm$ 1.0*

系,培养 $14 \text{ d}$ 后存活率仅为 $38.5\%$ ,而NY-001品系为 $52.3\%$ ,为WT品系的 $1.36$ 倍,且差异极显著( $P < 0.01$ );随着时间的增加,分裂率逐渐提高,到培养 $14 \text{ d}$ 时,NY-001品系的分裂率就已达 $99.6\%$ ,而WT品系只有 $88.6\%$ 。在 $0.3\%$ 下培养 $8 \text{ d}$ ,WT体细胞的存活率明显下降,只有 $47.6\%$ ,分裂率也仅有 $34.0\%$ ;随着培养时间的延长,到培养 $14 \text{ d}$ 时, $0.3\%$ 低盐度组中WT品系体细胞的存活率继续下降至 $30.2\%$ ,分裂率也受到一定影响,最终仅为 $74.2$ ;在 $0.3\%$ 下培养 $14 \text{ d}$ ,耐低盐品系NY-001的存活率逐渐下降至 $33.3\%$ ,与WT品系相比无显著差异。总体看出,没有任何一个品系体细胞全部分裂,说明 $0.3\%$ 不利于条斑紫菜生长。

如图 1-A 至图 1-D 所示,WT 品系条斑紫菜在 1.5% 下培养 2 周,体细胞萌发体生长情况最接近于正常盐度组(2.6%);而在 0.8% 组,WT 体细胞萌发体部分细胞的色素体溢出(如箭头所示),部分细胞色素体转淡,假根处细胞开始膨大,假根发育不正常;在 0.3% 组,存活的体细胞苗分裂速度明显变慢,部分细胞死亡和色素体溢出而导致其细胞数目极少。与

此相比,由图 1-E 至图 1-H 可见,各盐度组下培养的 NY-001 品系条斑紫菜的体细胞萌发体的形态和生长情况较野生品系更良好:在 0.8% 下培养 2 周,NY-001 品系的体细胞萌发体细胞排列整齐,无色素体溢出;在 0.3% 下培养 2 周,NY-001 品系体细胞萌发体也无法形成正常的假根,但萌发体中死亡细胞的比例较野生型小,尚能较好地维持细胞活性。

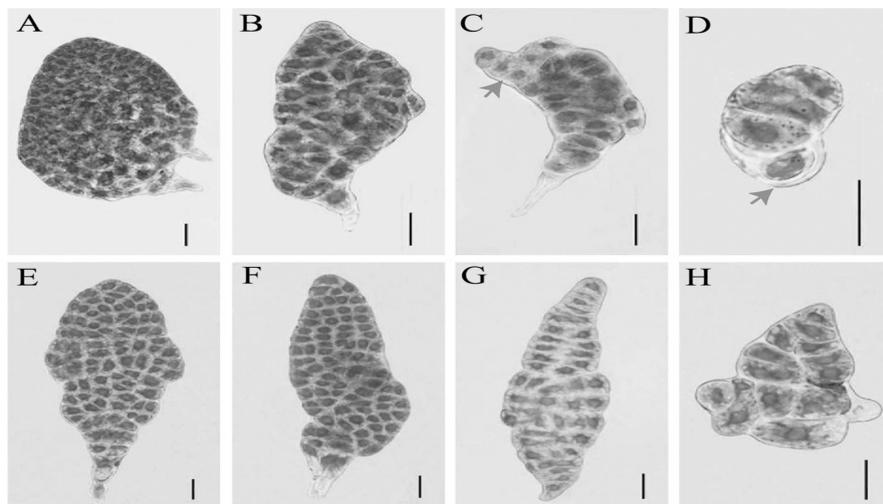


图 1 WT、NY-001 品系条斑紫菜体细胞萌发体在不同盐度下的培养情况

## 2.2 WT 和 NY-001 壳孢子对低盐胁迫的耐受性比较

表 5 至表 8 为 WT 与 NY-001 品系条斑紫菜在 0.3%、0.8%、1.5%、2.6% 下培养 14 d 的壳孢子存活率、分裂率。由表 5 可见,在正常盐度(2.6%)下,随着培养时间的延长,各品系条斑紫菜壳孢子的存活率逐渐下降:培养 5 d,各品系壳孢子的存活率基本维持在 90% 以上,耐低盐品系 NY-001 的存活率与野生型相比,无显著差异;培养 14 d,各品系壳孢子的存活率基本达到稳定状态,WT 品系的存活率只有 80.4%,与 NY-001 有显著性差异( $P < 0.05$ )。由表 6 可见,各品系壳孢子的分裂率随着培养时间的延长而逐渐上升,培养 14 d,2.6% 盐度处理下,2 个品系壳孢子的分裂率均为 100.0%,不存在显著性差异。

如表 5 所示,与 2.6% 处理一样,1.5% 处理各品系壳孢子的存活率也随着培养时间的延长而逐渐下降:培养 8 d 后,WT 品系壳孢子的存活率只有 71.0%,与 NY-001 品系的 94.2% 存在极显著差异( $P < 0.01$ );培养 14 d 后,WT 品系壳孢子的存活率下降为 63.9%,而选用品系的存活率高达 88.0%,与 NY-001 品系有极显著差异( $P < 0.01$ )。由表 6 可见,1.5% 处理的分裂率与 2.6% 处理相比也略有下降:培养 8 d 后,选用品系的分裂率在 90% 以上,而野生品系的分裂率只有 70.3%,与 WT 品系存在显著差异( $P < 0.05$ );培养 14 d,选用品系的分裂率达 100.0%,WT 品系的分裂率为 96.8%,与 WT 品系无显著差异。由表 7 可知,与 1.5%、2.6% 组相比,0.8% 盐胁迫处理 2 个品系壳孢子的存活率随着培养时间的延长而明显下降:培养 8 d 后,WT 品系壳孢子的存活率下降至 57.3%,与 NY-001 品系的 86.9% 存在极

显著差异( $P < 0.01$ );培养 14 d,WT 品系壳孢子的存活率不到 50%(44.5%),NY-001 品系壳孢子的存活率为 76.2%,为 WT 品系的 1.7 倍,且差异极显著( $P < 0.01$ )。由表 8 可见,0.8% 盐度下,2 个品系壳孢子的分裂率与 1.5%、2.6% 组相比也有明显下降,培养 14 d 后,WT、NY-001 品系壳孢子的分裂率分别为 71.4%、96.7%,可见选用品系的分裂率与野生品系相比存在极显著差异( $P < 0.01$ )。与 2.6% 处理相比,0.3% 处理各品系壳孢子的存活率随着培养时间的延长而急剧下降:培养 8 d 后,WT 品系壳孢子的存活率不到 20%(15.3%),与 NY-001 品系的 51.4% 存在极显著差异( $P < 0.01$ );培养 14 d,WT 品系壳孢子的存活率非常低,只有 5.2%,NY-001 品系壳孢子的存活率也不高,为 29.6%,为 WT 品系的 5.7 倍,差异极显著( $P < 0.01$ )。如表 8 所示,0.3% 盐度下,各品系壳孢子的分裂率与 2.6% 组相比也表现为急剧下降,培养 14 d 后,各品系壳孢子的分裂率均未达到 100%,分别为 28.8%、85.2%。综合比较可见,选用品系的分裂率与野生品系相比存在极显著差异( $P < 0.01$ )。

表 5 在 1.5%、2.6% 下培养的条斑紫菜 WT 与 NY-001 品系的壳孢子存活率

培养时间 (d)	存活率(%)			
	1.5%		2.6%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	100.0	100.0	100.0	100.0
5	82.2 ± 1.5	95.9 ± 1.0*	91.1 ± 1.5	95.9 ± 1.0*
8	71.0 ± 1.6	94.2 ± 1.3**	86.4 ± 3.2	95.6 ± 0.8*
11	67.0 ± 1.5	90.9 ± 2.8**	81.6 ± 1.1	92.6 ± 1.5*
14	63.9 ± 2.5	88.0 ± 2.2**	80.4 ± 0.8	90.0 ± 1.6*

表6 在1.5%、2.6%下培养的条斑紫菜 WT 与 NY-001 品系的壳孢子分裂率

培养时间 (d)	分裂率(%)			
	1.5%		2.6%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	0	0	0	0
5	39.3±4.5	86.4±1.2**	49.6±1.4	88.5±4.6**
8	70.3±3.1	94.3±2.9*	83.6±3.2	94.7±0.6*
11	83.9±3.2	96.7±1.6*	93.8±1.2	98.7±0.9*
14	96.8±1.9	100.0*	100.0	100.0

表7 在0.3%、0.8%下培养的条斑紫菜 WT 与 NY-001 品系的壳孢子存活率

培养时间 (d)	存活率(%)			
	0.3%		0.8%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	100.0	100.0	100.0	100.0
5	41.6±1.3	62.9±2.9*	65.3±2.7	89.4±1.5*
8	15.3±0.6	51.4±7.4**	57.3±0.8	86.9±0.9**
11	9.4±0.6	39.8±8.3**	51.5±1.5	83.1±2.3**
14	5.2±1.1	29.6±3.1**	44.5±3.6	76.2±1.3**

表8 在0.3%、0.8%下培养的条斑紫菜 WT 与 NY-001 品系的壳孢子分裂率

培养时间 (d)	分裂率(%)			
	0.3%		0.8%	
	WT	NY-001	WT	NY-001
1	0	0	0	0
5	7.8±1.6	51.3±6.3*	27.8±2.2	65.4±7.3**
8	17.4±2.2	69.6±1.6**	47.2±1.3	78.5±1.5**
11	25.5±2.0	76.6±2.2**	61.9±3.5	89.9±2.1**
14	28.8±2.8	85.2±3.6**	71.4±2.0	96.7±1.5**

从图2可以看出,培养2周的WT品系在2.6%盐度处理下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(图2-A);1.5%处理的壳孢子苗假根处细胞色素体收缩、部分细胞排列不均匀(图2-B);0.8%组的壳孢子苗颜色加深,光泽变差,形状变畸形,大部分细胞变小且色素体明显收缩、假根处细胞部分死亡(图2-C);0.3%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(图2-D)。与此相比,培养2周后,各盐度组NY-001品系的壳孢子萌发体生长明显优于WT品系,只是0.3%处理的壳孢子萌发体颜色略有加深,个别细胞色素体收缩,出现假根腐烂的情况(图2-E至图2-H)。

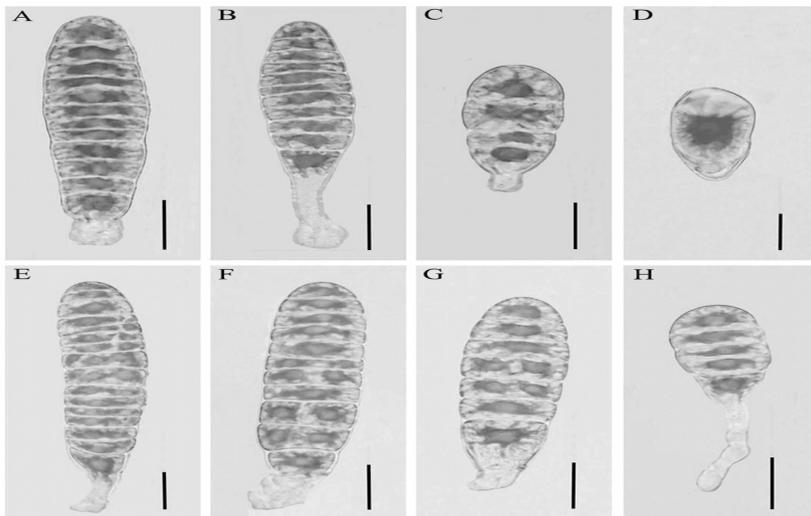


图2 WT和NY-001品系条斑紫菜壳孢子萌发体在不同盐度下的培养情况  
A至D分别为在2.6%、1.5%、0.8%、0.3%盐度下培养2周的WT壳孢子萌发体;E至H分别为在0.3%、0.8%、1.5%、2.6%盐度下培养2周的NY-001壳孢子萌发体。A至H的标尺均表示20 μm

图2 WT和NY-001品系条斑紫菜壳孢子萌发体在不同盐度下的培养情况

### 3 结论

紫菜是一种广盐性海藻,在2.6%~3.3%的盐度范围内都能正常生长,适合在不同盐度的海域栽培<sup>[2]</sup>;但当栽培海域盐度降至2.6%以下时,由于条斑紫菜野生品系经过几十年的重复使用而未经选育,其表现较为敏感,尤其是壳孢子的存活率、分裂率均会发生显著的变化,这在本研究的试验结果中得到印证。

目前紫菜的人工大规模栽培所选用的栽培种仍为野生种,经几十年的反复使用,未经选育,由于栽培过程中种质来源单一、优良性状的分离以及遗传结构的不稳定,进而导致抵抗低盐、高温、病害等逆境的耐受性大大降低<sup>[8-9]</sup>,使得紫菜

的产量和质量得不到保障;因此筛选优质、高产、抗逆性强的新品系有利于促进紫菜栽培业的持续健康发展。

严兴洪等研究发现,当盐度低于1.96%时,条斑紫菜叶状体的营养细胞存活率显著降低<sup>[10]</sup>;严兴洪等的其他研究也发现,坛紫菜野生品系的体细胞在0.8%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<sup>[3]</sup>。本研究表明,在0.8%下,NY-001品系的体细胞及壳孢子的存活率与分裂率也均显著降低,但在同等条件下,都比WT品系耐低盐胁迫能力增强;当盐度下降至0.3%时,虽然NY-001品系的体细胞及壳孢子的存活率、分裂率仍然明显高于WT品系,但观察其细胞形态和结构,已出现了部分细胞的溃败与凋亡。

(下转第229页)

首先选择国际通用并流行的李嘉图 5 分制标尺<sup>[6]</sup>进行专家打分,为克服专家打分法可靠性与灵敏性较差的缺点,采用灰色系统分析方法<sup>[7]</sup>对结果进行分析,该方法的优点是:要求样本量少;不要求样本有较好的分布规律;计算工作量少;不会出现量化结果与定性分析结果不符的情况;通过采用灰色统计方法进行数据处理,将定性的社会经济条件转变为定量数据,较好地纳入了评价体系,并保证数据的处理能客观地反映现实情况。对客观性较强的指标如水质、底质和生态指标采用改进的 TOPSIS 技术进行数据处理<sup>[8-9]</sup>,其主要优点包括:一是在评价 D 层指标权重时引入信息熵理论进行客观赋权,以避免各种水质、底质、生态指标权重计算的主观性;二是为去除传统 TOPSIS 技术理想和负理想解距离同向性的问题,用垂直距离代替传统的欧式距离,从而提高结果的可信度。

#### 4.2 评价体系指标合理性及数据易得性分析

对水环境进行评价体系的构建多考虑水质和底质 2 个方面,如通过底质指标评价筏式养殖对沉积环境的压力<sup>[10]</sup>,通过水质指标评价工业发展对湖泊生态的压力<sup>[11]</sup>等,本研究建立的评价体系指标相对较多,包含了养殖历史、养殖现状、社会环境、水质指标、生态指标、底质指标、气候条件 7 个二级指标,其中包含三级指标共 37 个,囊括了滩涂养殖对生态环境各方面的压力。这些指标数据均有很强易得性,其中各项社会经济条件指标均是各级水产养殖管理单位的必须统计项目,从养殖报表中容易获得各年度数据及发展趋势变化。在自然生态因子中,气候指标可查阅海洋环境统计年报;而水质、底质和生态指标可在条件允许时进行现场测定获得准确值,也可如本研究一样借用大规模海洋专项调查结果,通过 GIS 软件中插值的方法获得各养殖区的数据。

#### 4.3 评价结果的准确性及其意义

评价结果中生态压力较高的浅海养殖区均为养殖历史较长、养殖面积较大的养殖区,如山口南面浅海养殖区、西村-营盘南面浅海养殖区、漓尾岛南侧浅海养殖区和涠洲岛周边都是传统的贝类养殖区,老化现象严重,表明评价结果准确度

较高。由于评价所得的生态压力均为各养殖区之间的相对压力,因此,评价给出的排序结果指出了目前广西北部湾浅海养殖生态压力的分布情况,对浅海养殖业规划和布局的调整具有较强的指导意义。

#### 参考文献:

- [1] 曹晶晶,李海波,杨军军,等. 基于传统生态足迹和能值生态足迹方法的湖北省可持续发展状态比较[J]. 湖北大学学报:自然科学版,2011,33(3):313-316,327.
- [2] Bartelmus P. Green accounting for a sustainable economy - policy use and analysis of environmental accounts in the Philippines[J]. Ecological Economics,1999,29(1):155-170.
- [3] Brown M T,Ulgitati S. Emergy - based indices and ratio to evaluate sustainability: monitoring economics and technology toward environmentally sound innovation[J]. Ecological Engineering,1991,9(1/2):51-69.
- [4] 余凤鸣,杜忠潮,周杜辉. 基于熵值法的发展与生态环境耦合关系演变分析——以西安市为例[J]. 安徽农业科学,2011,39(34):21224-21227.
- [5] 周静,杨桂山,戴胡爽. 经济发展与环境退化的动态演进——环境库兹涅茨曲线研究进展[J]. 长江流域资源与环境,2007,16(4):414-419.
- [6] 大卫·李嘉图. 论政治经济学及赋税原理[M]. 北京:光明日报出版社,2009.
- [7] 邓聚龙. 灰色系统理论教程[M]. 武汉:华中理工大学出版社,1990.
- [8] 张先起,梁川,刘慧卿. 基于熵权的改进 TOPSIS 法在水质评价中的应用[J]. 哈尔滨工业大学学报,2007,39(10):1670-1672.
- [9] 陈雷,王延章. 基于熵权系数与 TOPSIS 集成评价决策方法的研究[J]. 控制与决策,2003,18(4):456-459.
- [10] 张继红,任黎华,吴桃,等. 筏式养鲍对沉积环境压力的评价——MOM-B 监测系统模型在桑沟湾的应用[J]. 渔业现代化,2011,38(1):1-6.
- [11] 游文荪,丁惠君,许新发. 鄱阳湖水生态安全现状评价与趋势研究[J]. 长江流域资源与环境,2009,18(12):1173-1180.

(上接第 224 页)

条斑紫菜的生活史分为单倍体的叶状体阶段与二倍体的丝状体阶段<sup>[7]</sup>,而体细胞属于叶状体阶段细胞,壳孢子则属于丝状体发育成熟后产生的 F<sub>1</sub> 代细胞,为了验证中选育出的 NY-001 品系的耐低盐性能否稳定遗传到后代中,笔者对该品系生活史的 2 个阶段的细胞做了详细的低盐胁迫条件下的测试,试验结果初步证实,在体细胞阶段和壳孢子阶段, NY-001 品系的耐低盐特性都是显著优于 WT 品系的。

综上所述,筛选得到的优良品系 NY-001 的耐低盐性是显著优于 WT 品系的,可以对其进行进一步选育,并逐渐把它们培育成耐低盐的优良品种,用于海区养殖生产,为地方特色产业提供品种保障。

#### 参考文献:

- [1] 赵素达,董树刚,吴以平,等. 盐胁迫对孔石莼的生理生化影响[J]. 海洋科学,2000,24(7):52-55.
- [2] 陈昌生,纪德华,谢潮添,等. 坛紫菜耐低盐品系的选育及经济性状的比较[J]. 集美大学学报:自然科学版,2009,14(1):1-7.

- [3] 严兴洪,陈敏. 坛紫菜耐低盐优良品系的筛选[J]. 上海水产大学学报,2008,17(3):316-320.
- [4] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. Jap J Phycol,1984,32:333-347.
- [5] 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.
- [6] Yan X H, Wang S J. Studies on the development and differentiation of somatic cells in *Porphyra* spp. (Rhodophyta)[J]. Marine Sciences, 1990,3(2):195-208.
- [7] 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[J]. 海洋与湖沼,2012,43(2):363-369.
- [8] 严兴洪,黄林彬,周晓,等. 坛紫菜叶状体的细菌性红烂病研究[J]. 中国水产科学,2008,15(2):313-322.
- [9] 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.
- [10] 严兴洪,江海波. 盐度对条斑紫菜体细胞生长发育的影响及耐低盐应变型体的初步观察[J]. 上海水产大学学报,1993,2(1):34-40.