中国水产科学 2017 年 7 月, 24(4): 738−745
Journal of Fishery Sciences of China

研究论文

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.17053

条斑紫菜优良品系(LC-14)的筛选与特性分析

唐隆晨[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: 从条斑紫菜(*Pyropia yezoensis*)绿色突变体和红色突变体种内杂交产生的 F_1 叶状体中, 分离出新品系 LC-14。该品系的 F_1 叶状体在生长速度和品质等方面均显著优于条斑紫菜野生型栽培品系(WT)。日龄 70 d 的叶状体平均长度和湿重, LC-14 品系分别为 106.53 cm 和 3.07 g, 分别是 WT 品系的 4.39 和 10.27 倍。培养至第 55 天, LC-14 品系的 3 种主要光合色素(叶绿素 a、藻红蛋白和藻蓝蛋白)含量分别为 9.85 mg/g、52.09 mg/g 和 23.26 mg/g, 分别比 WT 品系提高了 65%、65%和 49%, 而其藻体的平均厚度(20.89 μm)反而降低了 32%。此外, LC-14 品系的壳孢子放散总量为 761.32×10^4 ind/壳, 是 WT 品系的 1.28 倍。上述结果表明, LC-14 品系具有生长快、品质优、壳孢子放散量大的优点, 藻体颜色与野生色(棕褐色)相近, 是条斑紫菜的优良品系, 有望在生产中应用。

关键词: 条斑紫菜; 种内杂交; 优良品系; 叶状体; 生长速度
中图分类号: S968 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005−8737−(2017)04−0738−08

条斑紫菜(*Pyropia yezoensis*)隶属于红藻门(Rhodophyta), 原红藻纲(Protoflorideae), 红毛菜目(Bangiales), 红毛菜科(Bangiaceae), *Pyropia* 属[1], 是中国北方沿海地区重要的海藻栽培种之一。几十年来, 生产上使用的野生栽培种由于随意留种、近亲繁殖, 其种质出现了严重的退化, 导致产量和品质下降。因此, 条斑紫菜新品种的选育, 对该产业的可持续发展有着重要的意义。

自 Miura 等[2]首次从条斑紫菜中分离出天然色素突变体以来, 研究者已经能够利用人工诱变技术, 较为方便地获得紫菜突变体, 这为遗传育种提供了大量的材料[3−9], 促进了紫菜的杂交研究。1989 年, Miura 等[10]利用条斑紫菜不同色素突变体之间的杂交, 获得了高产良种。目前, 中国已通过人工诱变技术选育出多个条斑紫菜新品系[11−13], 虽然诱变育种能在短时间内获得大量突变体, 但随机性强, 诱变方向不可控制, 并存在回复突变等不稳定性[14]。相比而言, 杂交育种更能有目的地将亲本双方的优良性状稳定遗传到杂交后代中, 或是积累双亲中控制同一性状的不同微效基因, 发挥杂种优势, 产生在性状上超过亲本的类型[15]。

在以往的人工诱变选育中, 亲本的藻体颜色主要为野生色, 经诱变后能产生各种色彩的突变体, 其中的红色突变体颜色标记明显, 且一般具有较高的藻胆蛋白含量, 常被用于筛选优良品系[12−13, 16]。但在加工过程中发现, 藻体太红的紫菜, 经加工后其菜饼颜色与变质后的颜色比较接近, 无法满足商业菜饼对颜色的要求(尚未发表), 因此, 选育藻体颜色与野生色相近的优良品系具有重要意义。

条斑紫菜杂合丝状体产生的壳孢子在萌发时最初的 2 次细胞分裂是减数分裂, 产生的 4 个子细胞继续不断分裂, 最终发育成一个基因嵌合的叶状体[17]。Niwa 等[18]利用条斑紫菜红色型和绿色型突变体的杂交, 发现后代嵌合体中出现了除

收稿日期: 2017-02-27; **修订日期:** 2017-04-22.
基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA10A411); 国家自然科学基金资助项目(31072208); 福建省省长专项基金项目(2014S1477-10).
作者简介: 唐隆晨(1991–), 男, 硕士研究生, 专业方向为海藻遗传育种. E-mail: 350060372@qq.com
通信作者: 严兴洪, 教授. E-mail: xhyan@shou.edu.cn

2 种亲本色以外的类野生色和类亲本色等新颜色。本研究的目的是通过筛选条斑紫菜绿色突变体和红色突变体种内杂交产生的 F_1 叶状体, 获得藻体生长快、品质优且颜色与野生色相近的新品系。

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验所用的杂合丝状体是由条斑紫菜绿色突变体(LG)和红色突变体(R)杂交获得[14]。作为对照的条斑紫菜野生型栽培品系(WT), 是从采自江苏省吕泗海区紫菜栽培网帘上的叶状体分离所得, 并以丝状体的形式被保存于实验室内, 保存方法同 Kato 等[19]。

1.2　杂合丝状体的检验

促熟杂合丝状体[11], 将其释放的壳孢子培养成 F_1 叶状体, 并进行杂交鉴定, 方法同 Yan[14]。随机挑选日龄为 15 d 的 F_1 叶状体进行镜检, 统计叶状体的嵌合类型。

1.3　优良品系的筛选、分离纯化与品系建立

促熟杂合丝状体, 将其释放的壳孢子培养成长度为 5~10 cm 的叶状体, 培养条件为: 温度(19±1)℃, 光量子通量密度 50 μmol photons/(m^2·s), 光周期 10L∶14D。随后从中挑选一些生长较快, 且含有类野生色色块的嵌合叶状体, 用刀片将这些色块分别切下并进行单个培养。至日龄 50 d 时, 用打孔器(Φ=3 mm)分别从各色块取 10 个圆盘体, 置于充气瓶中培养, 每 5 d 更换 1/2 培养液, 观察并记录圆盘体的生长状况, 30 d 后, 挑选几个生长最快的色块圆盘体, 并分别获得它们的单孢子萌发体。待后者被培养长大后, 利用条斑紫菜叶状体雌雄同体的特性, 经自体受精获得各色块的纯系丝状体并建立选育品系[12]。随后通过比较选育品系与 WT 品系的叶状体生长速度、成熟期、色素蛋白含量、壳孢子放散量等性状, 筛选出综合性状最优的品系, 即为优良品系。

1.4　优良品系的特性分析

1.4.1　叶状体生长的测定　随机挑选日龄 40 d 的 F_1 叶状体 20 棵, 每 5 d 测定一次它们的长度和湿重, 并更换 1/2 的培养液。特定生长率与绝对生长率的计算方法参照文献[10]。

1.4.2　叶状体成熟期的统计　随机挑选日龄 30 d 的 F_1 叶状体 40 棵, 每 5 d 显微观察一次它们的成熟情况, 并更换 1/2 的培养液。

1.4.3　叶状体活体吸收光谱和色素蛋白含量的测定　F_1 叶状体被培养至 55 d, 测定它们的活体吸收光谱和主要色素蛋白含量。活体吸收光谱和叶绿素 a (Chla)含量的测定方法同 Yan 等[20]; 藻红蛋白(phycoerythrin, PE)和藻蓝蛋白(phycocyanin, PC)的含量的测定方法同高洪峰[21]。

1.4.4　叶状体厚度的测定　将叶状体平铺于塑料板上, 用双面刀片(飞鹰, 上海吉利)对叶状体的梢、中和基部进行徒手切片, 在光学显微镜(Eclipse 90i, Nikon Japan)下测量 10 个横切面的厚度并取平均值, 即为该部位的厚度。

1.4.5　壳孢子放散量的测定　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, 培养条件同 **1.3**。每天下午 1 点将杯中的孢子水搅拌均匀后倒入培养皿(Φ=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(×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[22]。每个品系设置 3 个平行组。

1.5　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±标准差(mean±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。活体吸收光谱曲线用 Origin 9.0 软件绘制。

2　结果与分析

2.1　杂合丝状体的验证

随机选取了 1586 株杂合丝状体的 F_1 叶状体进行观察, 共含有 4 种类型的单色叶状体和 111 种不同的色块嵌合叶状体。其中, 嵌合体占总数的 90.9%, 两色块和三色块嵌合体所占比例较大, 分别为 53.2%和 29.7%, 证明了该丝状体为杂合丝状体。

2.2 优良品系的筛选

从杂合丝状体产生的嵌合叶状体中，共挑选出 21 个具有明显生长优势的色块，随后通过圆盘实验筛选出 4 个生长最快的色块，并分别获得它们的单孢子萌发体，最后利用条斑紫菜叶状体雌雄同体的特性，自交获得这各色块的纯合丝状体，建立选育品系。通过比较各选育品系与野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体在生长、色素蛋白含量、厚度和壳孢子放散量等方面的性状，最终筛选出综合性状最优的品系，命名为 LC-14。

2.3 优良品系 F_1 叶状体的生长与成熟情况

LC-14 品系的 F_1 叶状体外形宽大，上下粗细较均匀，颜色呈棕褐色类野生色，与 WT 品系相近，藻体柔软但韧性好(图 1)。

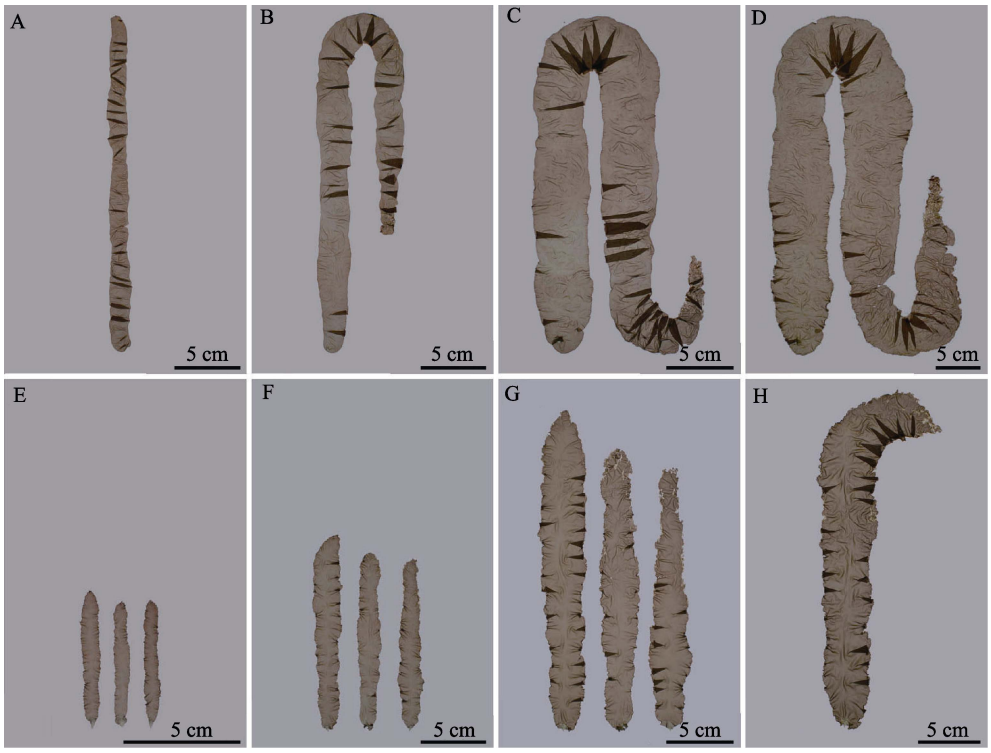

图 1 条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的叶状体形态

A~D: 分别为培养 40 d、50 d、60 d 和 70 d 的 LC-14 品系叶状体; E~H: 分别为培养 40 d、50 d、60 d 和 70 d 的 WT 品系叶状体. 标尺代表 5 cm.

Fig. 1 Morphology of F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis*

A–D: The F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) after being cultured for 40 d, 50 d, 60 d and 70 d; E–H: The F_1 gametophytic blades of the wild-type cultivated strain (WT) after being cultured for 40 d, 50 d, 60 d and 70 d. Bar: 5 cm.

2 个品系叶状体的生长情况如图 2 所示，在日龄 40~70 d 期间，LC-14 品系的叶状体平均长度远大于 WT 品系。日龄 40 d 时，LC-14 品系的平均体长为 17.35 cm，是 WT 品系的 3.38 倍；日龄 70 d 时，WT 品系的平均体长为 24.29 cm，而 LC-14 品系高达 106.53 cm，是 WT 品系的 4.39 倍。

2 个品系的叶状体生长率变化情况如表 1 所示，WT 品系生长缓慢，其绝对生长率最大值仅为 0.93 cm/d，出现在 46~50 d；LC-14 品系的绝对生长率在整个培养周期均大于 WT 品系，最大值为 4.13 cm/d，出现在 66~70 d。此外，LC-14 和 WT 品系的特定生长率整体上均随培养天数的增加而逐渐减小，但 WT 品系的下降速度比 LC-14 品系快。

2 个品系的叶状体平均单棵湿重的变化趋势，与它们的体长变化基本一致(图 3)，日龄 40 d 时，LC-14 品系的叶状体平均单棵湿重为 0.07 g，是 WT 品系的 8.01 倍。日龄 70 d 时，LC-14 品系高达 3.07 g，是 WT 品系的 10.27 倍。

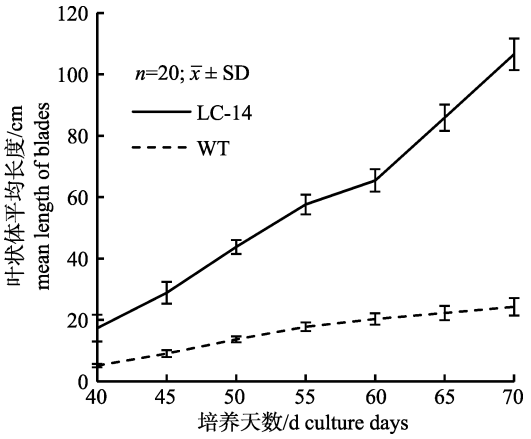

图 2　条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体长度变化

Fig. 2　The length of F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis*

表 1　条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体生长率

Tab. 1　Growth rates of F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis*

培养天数/d culture days	绝对生长率/(cm·d^{-1}) absolute growth rate		特定生长率/(%·d^{-1}) specific growth rate	
	LC-14	WT	LC-14	WT
41~45	2.30	0.78	10.17	11.32
46~50	2.99	0.93	8.35	8.28
51~55	2.77	0.82	5.49	5.24
56~60	1.56	0.51	2.54	2.66
61~65	4.09	0.39	5.44	1.83
66~70	4.13	0.40	4.31	1.73

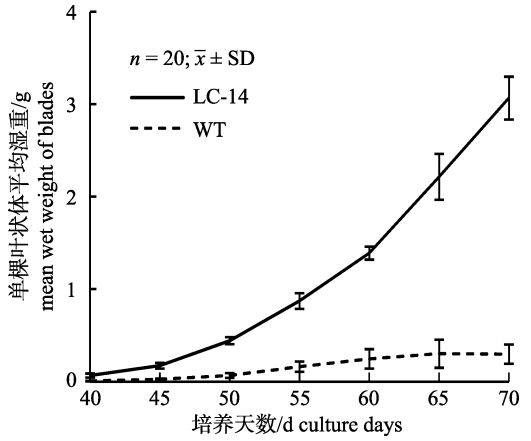

图 3　条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体平均单棵湿重

Fig. 3　The wet weight per F_1 gametophytic blade of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis*

从图 4 可知, 2 个品系的叶状体从开始出现成熟个体至所有个体全部成熟均经过了约 20 d 的培养周期。其中 WT 品系成熟较早, 日龄 36~40 d 时, 开始出现成熟, 至 50 d 时, 90%的个体已成熟, 至 55 d 时, 所有个体均已成熟; LC-14 品系成熟稍晚, 日龄 41~45 d 时, 少数的个体出现成熟, 至 60 d 时, 所有个体才成熟。

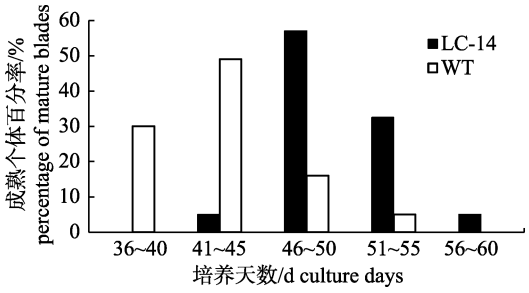

图 4　条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体成熟个体的百分率

Fig. 4　Percentages of the mature F_1 blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis*

2.4　优良品系 F_1 叶状体的活体吸收光谱和主要色素蛋白含量

在波长 350~750 nm, LC-14 和 WT 品系的活体吸收光谱均出现 5 个明显的吸收高峰(P_1~ P_5), 其中, P_1 主要由 Chla 和 β–胡萝卜素, P_2 由 PE 和 β–胡萝卜素, P_3 由 PE, P_4 由 PC, P_5 由 Chla 的吸收所致[3]。各吸收峰的峰值均是 LC-14 品系高于 WT 品系(图 5)。

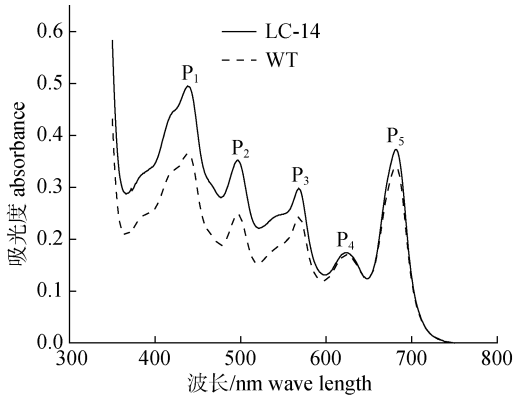

图 5　日龄 55 d 的条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体活体吸收光谱

Fig. 5　In vivo absorption spectra of F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis* after being cultured for 55 days

日龄 55 d 的叶状体, LC-14 品系的 Chla 和总藻胆蛋白(PE+PC)的含量分别为 9.85 和 75.36 mg/g, 分别比 WT 品系提高了 63%和 60% (表 2)。此外, LC-14 品系的 PE 和 PC 的含量均高于 WT 品系, 但 2 个品系的 PE/PC 值均接近于 2。

表 2 日龄 55 d 的条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的 F_1 叶状体主要色素蛋白含量

Tab. 2 Contents of major photosynthetic pigments in the F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis* after being cultured for 55 days

n=3; $\bar{x}$ ±SD; mg/g; 干重 DW

品系 strain	叶绿素 a (Chla)	藻红蛋白 (phycoerythrin, PE)	藻蓝蛋白 (phycocyanin, PC)	总藻胆蛋白 (PE+PC)
LC-14	9.85±0.28**	52.09±1.31**	23.26±1.11**	75.36**
WT	6.03±0.07	31.49±1.23	15.62±0.52	47.11

注: “**”表示不同品系间差异极显著(P<0.01, t-test).

Note: “**” means highly significant difference with WT strain (P<0.01, t-test).

2.5 优良品系 F_1 叶状体的厚度

2 个品系的叶状体厚度, 均表现为基部>中部>梢部, 但每个品系各部位间的厚度差异不大(表 3)。LC-14 和 WT 品系的平均厚度分别为 20.89 μm 和 30.81 μm, LC-14 仅为 WT 品系的 68%, 差异极显著(P < 0.01)。

表 3 条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT) F_1 叶状体各部位的厚度

Tab. 3 Thickness of different parts of F_1 gametophytic blades of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis* after being cultured for 55 days

n=30; $\bar{x}$ ±SD

品系 strain	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	
LC-14	20.04±0.49**	21.00±0.28**	21.62±0.28**	20.89±0.75**
WT	29.11±0.31	31.10±0.37	32.21±0.67	30.81±1.37

注: “**”表示不同品系间差异极显著(P<0.01, t-test).

Note: “**” means highly significant difference with WT strain (P<0.01, t-test).

2.6 壳孢子放散量

经连续 20 d 的观察比较, 发现 2 个品系的贝壳丝状体均可持续放散壳孢子, 且它们在放散开始后均出现 2 次放散高峰, 分别在第 3~5 天和 11~13 天(图 6)。第一个高峰的壳孢子放散量, LC-14 品系为 229.01×10^4 ind/贝壳, 是 WT 品系的 1.24 倍; LC-14 和 WT 品系连续 20 d 壳孢子的总放散量分别为 761.32×10^4 ind 和 593.36×10^4 ind/贝壳, LC-14 品系为 WT 品系的 1.28 倍, 差异显著(P<0.05)。

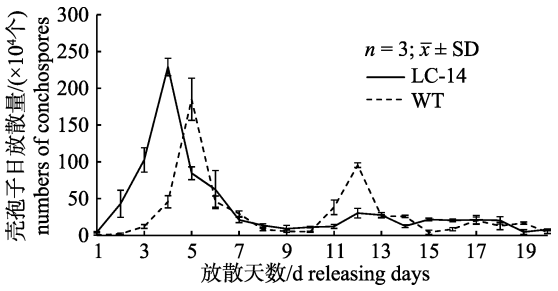

图 6 条斑紫菜优良品系(LC-14)和野生型栽培品系(WT)的贝壳丝状体连续 20 d 的壳孢子放散量

Fig. 6 Numbers of the released conchospores of the improved strain (LC-14) and wild-type cultivated strain (WT) in *Pyropia yezoensis* during 20 days of conchospore-releasing

3 讨论

叶状体的生长速度和成熟期均直接影响着紫菜产量[23]。在条斑紫菜的整个栽培过程中, 会经历多次采收, 其中第一次一般在叶状体日龄 45~55 d 时, 此时菜的藻体脆嫩, 口感好, 品质最佳, 菜的价格也最高[24], 因此, 第一次采收的产量, 对该年紫菜的总体效益影响比较大。LC-14 品系具有生长前期生长较快的优点, 培养至 50 d 时, 其叶状体的平均单棵湿重(0.44 g)远高于 WT 品系(0.07 g), 结果表明, 相对于 WT 品系, LC-14 品系的第一水采收产量会有较大幅度的提升。此外, 尽管 LC-14 品系的成熟期与 WT 品系相差不大, 但其叶状体的成熟速度较慢, 仅局限于稍部的小部分区域, 成熟后仍能保持较快的生长速度。

Chla 是植物光合作用中最基本的色素, 在同样光照条件下其含量与光合作用强度和碳固定量成正相关, 反映了植物体的生产力水平[25]。本实验结果显示, 在整个培养期间 LC-14 品系的生长优势明显, 这与它的 Chla 含量较高有关。紫菜叶状体中 3 种光合色素(Chla、PE 和 PC)的含量和它们之间的比值决定着藻体的颜色和商业菜饼的品

质[26], 在本实验中, LC-14 和 WT 品系的 PE/PC 值均接近于 2, 它们的藻体颜色也相近, 为棕褐色。但 LC-14 品系的总藻胆蛋白(PE+PC)含量显著高于 WT 品系, 表明前者制成的商业菜饼具有更优的品质。叶状体的厚度也是影响紫菜品质的重要因素之一, 如果太厚, 则其加工制品(如海苔)的口感和品相较差[27], 本实验选育的 LC-14 品系的叶状体厚度 20.89 μm, 仅为 WT 品系的 68%, 适合被加工成高品质的紫菜产品。

此外, 作为一个要在生产上推广使用的优良品系, 其贝壳丝状体的壳孢子放散量也是一个重要指标, 这直接影响到生产上采苗工作是否能顺利进行[28]。LC-14 品系的壳孢子放散总量达到 761×10^4 ind/贝壳, 放散第 4 天的壳孢子日放散量超过 200×10^4 ind/贝壳, 均显著高于 WT 品系, 完全能够满足生产需求。

我们的杂交选育初步结果表明, LC-14 品系具有生长快、品质优、壳孢子放散量大的潜力, 藻体颜色与野生色相近, 在推广过程中, 若这些性状能保持稳定, 将有望在生产中被大规模应用。

参考文献:

[1] Sutherland J E, Lindstrom S C, Nelson W A, et al. A new look at an ancient order: Generic revision of the Bangiales (Rhodophyta)[J]. J Phycol, 2011, 47(5): 1131–1151.

[2] Miura A, Aruga Y, Fuseya M. Thremmatological studies of cultivated *Porphyra* Ⅱ. Effect of selection on the form and color of foliose thalli in *Porphyra yezoensis* from narawaensis[C]. Nippon Suisan Gakkai, 1974: 93.

[3] Yan X H, Tanaka J, Aruga Y. Isolation and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(3): 221–228. [严兴洪, 田中次郎, 有贺佑胜. 条斑紫菜色彩突变体的诱导、分离和特性分析[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 221–228.]

[4] Li Y B, Zuo Z H, Li B W, et al. Studies on protoplasts morphological change and growth of *Porphyra haitanesis* treated with mutagen MNNG[J]. Journal of Xiamen University: Sciences, 2006, 45(3): 400–403. [李勇斌, 左正宏, 李博文, 等. MNNG(N-甲基-N′-硝基-N-亚硝基胍)诱变坛紫菜原生质体的初步研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(3): 400–403.]

[5] Zhang H B, Hou H S. Research progress in pigment mutants of *Porphyra*[J]. Letters in Biotechnology, 2007, 18(2): 353–356. [张海波, 侯和胜. 紫菜色素突变体研究进展[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(2): 353–356.]

[6] 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. [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.]

[7] Tan Y H, Huang L B, Yan X H. Selection and characterization of a low-salinity tolerant strain in *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2014, 45(3): 504–512. [檀应华, 黄林彬, 严兴洪. 坛紫菜耐低盐品系的选育与特性分析[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(3): 504–512.]

[8] 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. [张聪, 严兴洪. *Pyropia churharii* 新品系的分离与特性分析[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1457–1465.]

[9] Li S P, Yan X H. Isolation and characterization of an improved strain of *Pyropia dentate* (Bangiales, Rhodophyta) after being irradiated by ^{60}Co-γ ray[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2015, 37(10): 69–79. [李淑平, 严兴洪. ^{60}Co-γ 射线辐照对长紫菜的诱变效果及优良品系分离与特性分析[J]. 海洋学报, 2015, 37(10): 69–79.]

[10] Miura A, Shin J A. Crossbreeding in cultivars of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) – preliminary report[J]. J Phycol Korea, 1989, 4(2): 207–211.

[11] Fu C H, Yan X H, Huang L B, et al. The releasing and high-temperature resistance of conchospores from an improved strain in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2011, 42(3): 460–466. [付春辉, 严兴洪, 黄林彬, 等. 条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)选育品系壳孢子的放散量与耐高温性研究[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(3): 460–466.]

[12] 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[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 363–369.]

[13] 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]. J Appl Phycol, 2011, 23(5): 841–847.

[14] Yan X H. Induction, isolation and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales,

Rhodophyta)[D]. Tokyo: Tokyo University of Fisheries, 1997: 1–101.

[15] He P M, Qin S, Yan X J, et al. Seaweed Biological Technology and It's Application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 86–98. [何培民, 秦松, 严晓军, 等. 海藻生物技术及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 86–98.]

[16] Zhang B L. Isolation and characterization of heat-resistant strains in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2009: 35. [张秉磊. 条斑紫菜耐高温品系的筛选[D]. 上海: 上海海洋大学, 2009: 35.]

[17] Ohme M, Kunifuji Y, Miura A. Cross experiments of the color mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda[J]. Jpn J Phycol, 1986(34): 101–106.

[18] Niwa K. Genetic analysis of artificial green and red mutants of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Aquaculture, 2010, 308(1–2): 6–12.

[19] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. J Appl Phycol, 1984, 32(4): 333–347.

[20] 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.

[21] 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. [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.]

[22] Liu M J. Intraspecific hybridization of the *Pyropia yezoensis* and selection of the new strains[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014: 4–49. [刘美君. 条斑紫菜种内杂交及新品系的选育[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014: 4–49.]

[23] Huang W, Lv 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. [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.]

[24] Ying M M, Shi Z W, Pan F. Analysis of nutritional components in different harvest period of *Porphyra*[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2009, 1(6): 1227–1228. [应苗苗, 施文正, 潘峰. 紫菜不同收割期营养成分的分析[J]. 浙江农业科学, 2009, 1(6): 1227–1228.]

[25] Liu H J, Huang L M, Tan Y H, et al. Seasonal variations of chlorophyll a and primary production and their influencing factors in the Pearl River Estuary[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2017, 36(1): 81–91. [刘华健, 黄良民, 谭烨辉, 等. 珠江口浮游植物叶绿素 a 和初级生产力的季节变化及其影响因素[J]. 热带海洋学报, 2017, 36(1): 81–91.]

[26] Aruga Y, Miura A. In vivo absorption spectra and pigment contents of the two types of color mutants of *Porphyra*[J]. Jpn J Phycol, 1984(32): 243–250.

[27] 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. [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.]

[28] Wu H X, Yan X H, Song W L, et al. Selection and characterization of an improved strain produced by genetic recombinant of interspecific hybridization between *Pyropia haitanensis* and *Pyropia radi*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(8): 1079–1088. [吴宏肖, 严兴洪, 宋武林, 等. 坛紫菜与 *Pyropia radi* 种间杂交重组优良品系的选育与特性分析[J]. 水产学报, 2014, 38(8): 1079–1088.]

Selection and characterization of the improved strain (LC-14) in *Pyropia yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta)

TANG Longchen[1], DING Hongchang[1], 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: *Pyropia yezoensis* belongs to Bangiaceae, Bangiales, Protoflorideae, Rhodophyta. For its high commercial and nutritional value, it becomes one of the most important seaweed cultivars in the coastal area of northern China. For decades, because of incorrect breed conservation and inbreeding, the germplasm of this species had been serious degenerated, which resulted in a decline of yield and quality such as slower growth rate, thicker, matured earlier and more susceptible. These problems seriously affected the economic benefits of the cultivation. Therefore, breeding new varieties of *P. yezoensis* is greatly significant for the sustainable development of this industry. In order to select a new variety of *P. yezoensis* with faster growth rate, higher quality and wild-type color, intraspecific hybridization of the green-type pigmentation mutant and red-type pigmentation mutant in *P. yezoensis* was conducted to isolate an improved strain (LC-14) from the recombinants. After cultured for 70 days, the mean length and wet weight of F_1 blades in LC-14 strain was 106.53 cm and 3.07 g, which was 4.39 and 10.27 times of the wild-type strain (WT), respectively. The results indicated that the improved strain had higher growth advantages, and the higher yield compared with WT strain. Being cultured to 55 days, the contents of three major photosynthetic pigments (chlorophyll a, phycocyanin and phycocyanin) in LC-14 strain were 9.85 mg/g, 52.09 mg/g and 23.26 mg/g, with an increasing by 65%, 65% and 49% when compared with WT strain respectively. Meanwhile, the thickness of blades of LC-14 strain was 20.89 μm, which is 32% thinner than that of WT strain. These results showed that the taste was better, and the quality was higher than those of the WT strain. In addition, the daily amount of conchospores released from LC-14 strain could be more than 2 million and the total amount of conchospores for successive 20 days was 761.32×10^4, which was 1.28 times compared to WT strain. The results showed that conchospores released were sufficient during the stage of seedlings collection and the productive requirements of releasing amount could be fully satisfied. In summary, all of these results above confirmed that LC-14 strain with fast growth rate, high quality, large amount of conchospores and similar color with wild-type was suitable for cultivation, which completely achieved the original intention of this study. Therefore, LC-14 strain is expected to become a new improved variety through the national approval and be applied in the practical production in the near future.

Key words: *Pyropia yezoensis*; intraspecific hybridization; improved strain; gametophytic blades; growth speed

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