

文章编号: 1674-5566(2013)06-0876-06

三十烷醇对坛紫菜叶状体生长的影响

张欢欢¹, 李琳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 农业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: 为了探讨三十烷醇对坛紫菜野生型品系(WT)叶状体生长的影响作用,用 1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 5×10^{-7} 和 7×10^{-7} 的三十烷醇溶液处理WT品系叶状体1 d,恢复正常条件充气培养25 d后发现:在上述浓度范围内, 3×10^{-7} 组对WT品系的叶状体的促生长效果最明显, 5×10^{-7} 组次之, 1×10^{-7} 组处理几乎无效果,而 7×10^{-7} 组对叶状体生长有一定的抑制作用。与对照组相比, 3×10^{-7} 组叶状体的平均长度增加了94.92%,叶绿素a、藻红蛋白和藻蓝蛋白含量分别提高了26.00%、92.88%和84.89%。三十烷醇对WT品系叶状体生长的促进作用呈现出先增加后降低的趋势,而且这种促生长作用会持续到处理后20 d左右。上述结果表明:适宜浓度的三十烷醇溶液(3×10^{-7})浸泡处理可以显著、持续地促进WT品系的叶状体生长,增加光合色素和色素蛋白的含量。

研究亮点: 使用植物生长调节剂三十烷醇处理坛紫菜野生型品系叶状体,比较系统地研究了不同浓度的处理下,叶状体的生长、颜色和形态的变化,并获得了三十烷醇使用的适宜浓度范围。这一研究结果为坛紫菜栽培业提高产量和改善品质提供了新方法。
关键词: 坛紫菜;叶状体;三十烷醇;浸泡;生长
中图分类号: S 968. 43
文献标志码: A

坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)是我国特有的紫菜种,在福建、浙江等地沿海广泛栽培。近年来,由于坛紫菜栽培面积扩大,栽培密度增高,致使坛紫菜叶状体营养不足、抗逆性变差、病害增多、藻体品质下降,这些因素严重影响了紫菜栽培的经济效益,制约着紫菜栽培的可持续发展^[1]。1977年,美国科学家RIES等首次发现苜蓿中提取的三十烷醇(Triacontanol)可以促进水稻、玉米、大麦等多种农作物的生长^[2]。我国从20世纪九十年代开始将三十烷醇列入全国农牧渔业丰收计划,此后,我国学者广泛开展了关于三十烷醇对菌类和高等植物作用的研究^[3-6]。三十烷醇在大型海藻中的应用多见于对褐藻门中海带和裙带菜的孢子体和配子体的生长、发育以及生理特性的影响研究^[7-11]。而三十烷醇在红

藻门藻类的研究多见于对海萝孢子体、江蓠和小石花菜的促生长作用的研究^[12-14]。此外,在生产上,刘德盛^[15]、苏维迎^[16]分别使用三十烷醇提高了紫菜的产量以及游离氨基酸和叶绿素的含量。

紫菜含有叶绿素a(Chl. a),藻红蛋白(phycoerythrin, PE)和藻蓝蛋白(phyocyanin, PC)3种主要的光合色素和色素蛋白,紫菜叶状体的颜色和紫菜饼的质量主要由这3种色素的含量和比例决定^[17-19]。本文在室内培养条件下,使用不同浓度的三十烷醇溶液浸泡处理坛紫菜野生型品系(WT)的叶状体,恢复正常条件培养后,记录叶状体的生长和主要光合色素的含量变化,旨在获得三十烷醇促进坛紫菜叶状体生长的最佳处理浓度范围,并逐步将其应用于生产。

收稿日期: 2013-04-22 修回日期: 2013-06-03

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2012AA100811);国家自然科学基金(31072208);农业部公益性专项(200903030);国家海洋局公益专项(201105023,201105008);国家农业科技成果转化资金项目(2011GB2C000005);上海市科学技术委员会重点科技攻关项目(10391901100)

作者简介: 张欢欢(1988—),女,硕士研究生,研究方向为海藻遗传育种。E-mail:zhanghuanhuan207@126.com

通信作者: 严兴洪,E-mail:xhyan@shou.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 实验材料

本试验所使用的坛紫菜 *WT* 品系,是以采自福建省平潭县牛山岛岩礁上的一株雌性叶状体,利用单性生殖方式^[20]建立纯系,并以自由丝状体的形式被保存在实验室内。

1.2 培养液的配制

用添加 MES 培养基^[21]的灭菌海水配制成坛紫菜叶状体的培养液。三十烷醇以 2% 有效含量的乳粉形式购自郑州神雨生物制品有限公司,用坛紫菜叶状体培养液溶解配制成 10^{-6} 的三十烷醇乳粉母液。按照不同的稀释倍数,将三十烷醇母液添加到坛紫菜叶状体培养液中,配制成浓度为 1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 5×10^{-7} 和 7×10^{-7} 的三十烷醇处理液备用。

1.3 叶状体的培养和生长测定

从室内培养的坛紫菜 *WT* 品系的壳孢子萌发体中挑选出 100 棵色泽好、生长健康、大小相近的叶状体(日龄 20 d,长度 0.4 cm,宽度 0.3 cm),随机分成 5 组,分别在 1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 5×10^{-7} 和 7×10^{-7} 的三十烷醇处理液和对照组(未添加三十烷醇的培养液)中浸泡,于三角烧瓶中静置培养 24 h。浸泡时的培养条件:温度(24 ± 1) $^{\circ}\text{C}$;光强 $60 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;明暗周期 10L: 14D。浸泡结束后,吸干各组叶状体表面的多余处理液,并移入充气瓶中进行充气培养,培养液为添加 MES 培养基的灭菌海水。培养条件同上,每隔 5 d 更换 1/3 的培养液,同时测量各组叶状体的长度,并拍照记录叶状体的生长情况。

1.4 叶状体 3 种主要光合色素和色素蛋白含量的测定

浸泡处理后恢复正常条件培养 25 d 后,测定坛紫菜 *WT* 品系叶状体(日龄 46 d)的主要光合色素和色素蛋白(Chl. *a*, PE 和 PC)的含量。叶状体中 Chl. *a* 的测定方法同文献^[22],PE 和 PC 的测定方法同文献^[23]。

2 结果

2.1 三十烷醇对坛紫菜叶状体生长的影响

如图 1 和图版所示,经不同浓度(1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 5×10^{-7} 和 7×10^{-7})三十烷醇溶液浸泡处理的坛紫菜 *WT* 品系叶状体恢复正常条件培养

后,各组叶状体的平均长度变化存在明显差异。5 个浓度处理组中, 1×10^{-7} 处理组的叶状体长度增加与对照组相差不大, 7×10^{-7} 处理组的叶状体长度增加反而不及对照组, 3×10^{-7} 和 5×10^{-7} 组中的叶状体长度均大于对照组,其中以 3×10^{-7} 组中的叶状体最长,其平均长度比对照组增加了 94.92%。从图版中也可以看出,使用 3×10^{-7} 的三十烷醇溶液浸泡过的叶状体长度大于其他各组(图版 - 3, 8, 13, 18),而使用 7×10^{-7} 组的叶状体长度小于对照组,而且藻体皱缩、不平展(图版 - 5, 10, 15, 20)。

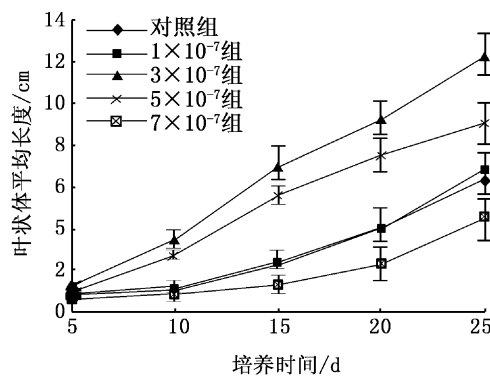


图 1 三十烷醇对坛紫菜 *WT* 品系叶状体长度增加的影响

Fig. 1 The effect of triacontanol on the increase of blades length of the wild type strain in *P. haitanensis*

从表 1 可以明显看出,在 3×10^{-7} 和 5×10^{-7} 三十烷醇处理组中,叶状体的日均增长一直高于其他几组,而且大致呈现出先增加后下降的趋势,其中 3×10^{-7} 三十烷醇处理过的叶状体,在培养开始后的 11 ~ 15 d 内达到日均增长最大值(0.70 cm)。为了掌握浸泡处理后三十烷醇对叶状体生长作用效果的持续时间,以各处理组与对照组的日均增长比值作图(图 2),在 6 ~ 10 d 内, 3×10^{-7} 和 5×10^{-7} 组叶状体的日均增长与对照组的比值达到最大值(分别是对照组的 6.45 和 5.08 倍),之后逐渐减小,在 16 ~ 20 d 内趋近于 1。而 1×10^{-7} 组叶状体的日均增长与对照组的比值一直在 1 左右波动, 7×10^{-7} 组叶状体的日均增长与对照组的比值始终小于 1。

表 1 三十烷醇溶液对坛紫菜 WT 品系叶状体长度日均增长的影响
Tab. 1 The effect of triacontanol on the daily average length increment of the wild type strain in *P. haitanensis*

培养天数 /d	叶状体长度日均增长/cm				
	1×10^{-7} 组	3×10^{-7} 组	5×10^{-7} 组	7×10^{-7} 组	对照组
1~5	0.08	0.18	0.11	0.04	0.09
6~10	0.05	0.45	0.35	0.04	0.07
11~15	0.28	0.70	0.58	0.10	0.21
16~20	0.31	0.45	0.38	0.20	0.35
21~25	0.57	0.61	0.32	0.45	0.45

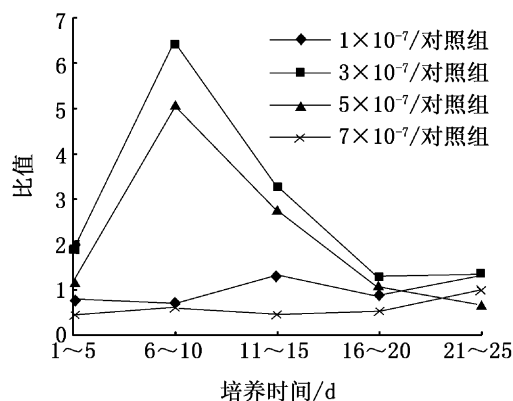


图 2 三十烷醇对坛紫菜 WT 品系叶状体长度日均增长的影响

Fig. 2 The effect of triacontanol on the daily average length increment of the wild type strain in *P. haitanensis*

2.2 叶状体 3 种主要光合色素和色素蛋白的含量

如图 3 所示,不同浓度三十烷醇溶液浸泡处理,恢复正常培养后叶状体中叶绿素 a (Chl. a) 和藻胆蛋白 (PE 和 PC) 的含量均高于对照组。其中用 3×10^{-7} 三十烷醇浸泡处理过的叶状体 Chl. a、PE 和 PC 的含量最高,与对照组相比,分别提高了 26.00%、92.88% 和 84.89%。 1×10^{-7} 和 7×10^{-7} 三十烷醇溶液浸泡处理过的叶状体的叶绿素 a 和藻胆蛋白的含量增加不明显。从图版中也可以看出, 3×10^{-7} 三十烷醇浸泡处理过的叶状体平展、颜色鲜艳、柔软有光泽,呈现细长披针形(图版-3,8,13,18)。

3 讨论

张丽娟^[13]使用三十烷醇对绳江藻的藻体和孢子浸泡 24 h,发现适宜的三十烷醇浸泡浓度,对绳江藻藻体生长和孢子的萌发均有明显的促进作用。本试验采用相同的方法处理坛紫菜叶

状体,观察到类似的促生长效果。试验中 7×10^{-7} 三十烷醇对叶状体生长显示出抑制作用,这一现象与陈素文等^[12]用三十烷醇处理海萝的实验结果相符,这是因为高浓度的植物生长调节剂会使生长受到抑制,甚至死亡。

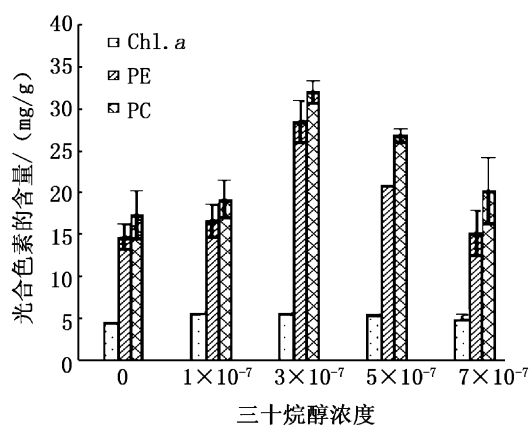


图 3 三十烷醇浸泡处理后培养 25 d 的坛紫菜 WT 品系叶状体的叶绿素 a (Chl. a), 藻胆蛋白 (PE) 和藻蓝蛋白 (PC) 的含量

Fig. 3 Contents of Chl. a, PE and PC in the blades of the wild type strain in *P. haitanensis* cultured for 25 days after triacontanol treatment

虽然 3×10^{-7} 和 5×10^{-7} 三十烷醇处理过的 WT 品系叶状体在恢复培养后 11~15 d 表现出最高的日均生长速度,但因同一时期对照组也处于快速生长期(表 1),因此,三十烷醇处理效果的最佳表现时期应该在恢复培养后 6~10 d(图 2)。从图 2 可以看出, 3×10^{-7} 和 5×10^{-7} 组叶状体的日均增长和对照组的比值在 16~20 d 内接近于 1,即其日均增长与对照组趋于相同,这一结果说明三十烷醇浸泡处理一次的作用效果可以持续 20 d 左右。说明 24 h 的处理时间,足可以体现出三十烷醇的作用效果。在生产应用中,可以每隔 20 d,使用 3×10^{-7} 的三十烷醇重新处理一次叶状体,以达到最佳的促生长作用。紫菜栽培过程

中,可以在紫菜网帘拉回岸边进行干露时,结合三十烷醇浸泡处理,增加紫菜的产量。由于三十烷醇对一些海洋微藻也具有一定的促生长作用^[24-25],实际生产操作中,三十烷醇是否会引起其他藻类的繁殖而影响叶状体的生长,还有待进一步的研究。

姚南瑜和陈敏资^[8]研究表明,三十烷醇能提高海带叶绿素和岩藻黄素含量,促进光合作用,并可提高海带对磷酸盐和硝酸离子的吸收,还可增加体内核酸含量,促进海带迅速生长。经 3×10^{-7} 三十烷醇处理过的坛紫菜叶状体,其长度、Chl. *a*、PE 和 PC 的含量显著高于其他各组,分析原因也可能是由于三十烷醇的浸泡处理提高了光合色素含量,增加了营养物质吸收,从而使光合速率提高、细胞分裂加快、物质积累增加、叶状体快速生长、颜色加深。虽然与对照组相比, 1×10^{-7} 和 7×10^{-7} 处理组的叶状体的光合色素和色素蛋白的含量也有增加,但叶状体的长度并没有明显增加,尤其是 7×10^{-7} 组反而下降。这可能是由于高浓度的三十烷醇溶液处理抑制了营养物质的吸收,但随着抑制作用的逐渐消失,叶状体重新恢复生长,光合色素和色素蛋白含量也逐渐恢复正常。

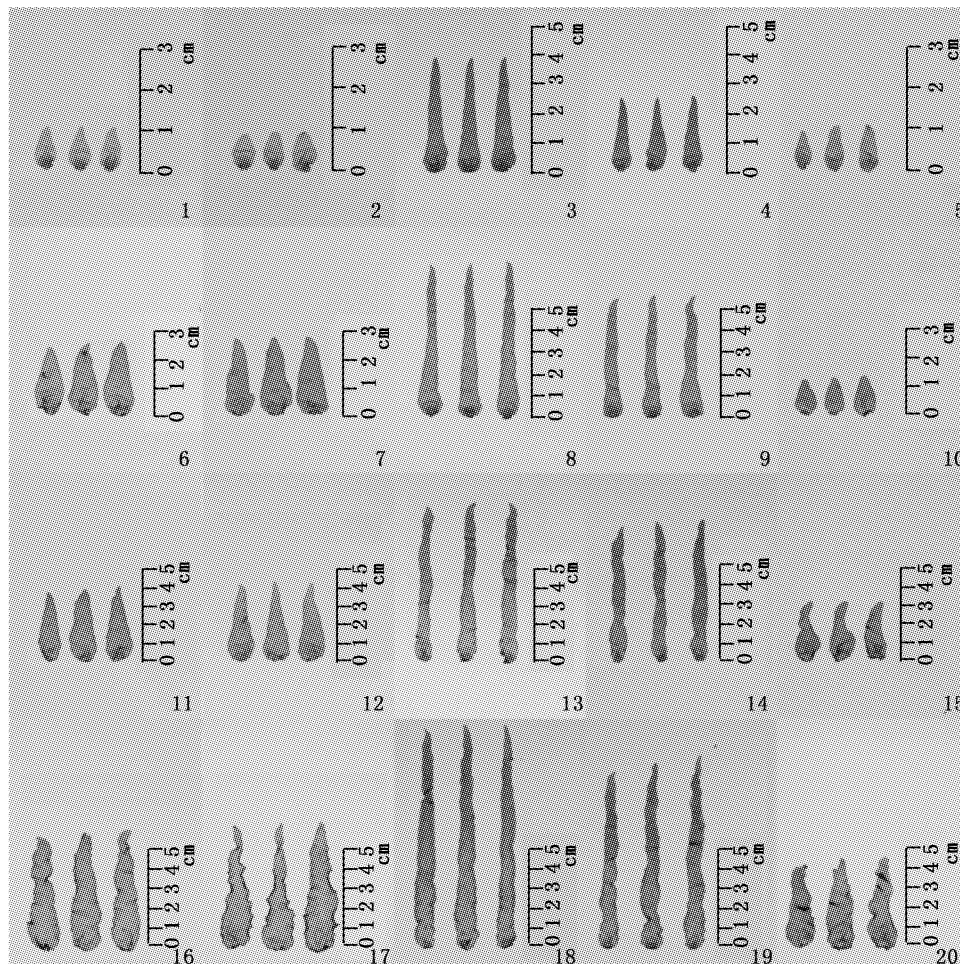
三十烷醇是一种绿色健康、可长期储存、运输方便、使用量少的植物生长调节剂。石利利按化学农药环境安全评价试验准则的要求研究了三十烷醇在水体中的光解和水解特性,发现三十烷醇在水体中相当稳定,残效期较长^[26]。由于三十烷醇在生产中的用量很低,正常的使用一般不会对环境产生危害影响,长时间的使用对环境的影响有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 游华. 平潭县坛紫菜养殖现状与发展对策[J]. 水产科技情报, 1999, 26(6): 272-273.
- [2] RIES S K, WERT V, SWEELEY C C, et al. Triacantanol: a new naturally occurring plant growth regulator [J]. Science, 1977, 195(4284): 1339-1341.
- [3] 刘德盛, 陆修闾, 何明忠, 等. 植物生长调节剂三十烷醇(TA)乳粉对水稻产量的影响[J]. 中国工程科学, 2002, 4(11): 82-88.
- [4] 彭子模, 赵红艳, 从媛媛, 等. 三十烷醇和亚硫酸氢钠对小麦生长发育的影响[J]. 新疆农业科学, 2000(5): 212-214.
- [5] 赵怡红, 王金福, 杜玉宁, 等. 三十烷醇在苜蓿种植中的应用[J]. 宁夏农林科技, 2003(6): 16-17.
- [6] 孔庆环, 温鲁, 朱寿荣, 等. 三十烷醇在松菇生料栽培中的增产效应[J]. 江苏农业科学, 2006(6): 353-355.
- [7] 季文兰. 关于三十烷醇对海带增产效果及其经济效益的探讨[J]. 水产养殖, 1990(6): 11-12.
- [8] 姚南瑜, 陈敏资. 三十烷醇对海带生长和生理活性的影响[J]. 水产学报, 1989, 13(2): 133-137.
- [9] 庄岩, 戴继勋, 潘洁, 等. 三十烷醇对海带三个品系雌配子体克隆生长和发育的影响[J]. 海洋湖沼通报, 1998(4): 39-42.
- [10] 刘东艳, 刘东旭. 三十烷醇对海带叶绿体超微结构的效应[J]. 海洋湖沼通报, 1999(4): 27-30.
- [11] 陈敏资, 陈树科, 从云善. 三十烷醇对裙带菜产量的影响[J]. 水产科学, 1987, 6(1): 12-14.
- [12] 陈素文, 吴进锋, 陈利雄, 等. 三十烷醇对海萝孢子萌发、幼苗及藻体生长的影响[J]. 华南农业大学学报, 2011, 32(1): 78-82.
- [13] 张丽娟. 三十烷醇对绳江藻(*Gracilaria Chorda Holm*)的生长与孢子萌发的影响[J]. 厦门水产学院学报, 1996, 18(2): 8-12.
- [14] 张丽娟, 吴志明. 三十烷醇对小石花菜藻体生长发育的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(4): 117-118.
- [15] 刘德盛. TA 乳粉能提高海带、紫菜的产量[J]. 农业科技要闻, 1997(19): 5-6.
- [16] 苏维迎. 三十烷醇(TA)乳粉对紫菜产量和质量的影响[J]. 福建水产, 1995(1): 21-23.
- [17] ARUGA Y. Color and the pigments of *Porphyra yezoensis* [J]. Iden, 1980, 34(9): 8-13.
- [18] SAITO M, ARAKI S, SAKURAI T, et al. Variations in contents of photosynthetic pigments total nitrogen, total free amino acids and total free sugars in dried lavers obtained at different culture grounds and harvesting times [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1975, 41(3): 365-370.
- [19] 姜红霞, 汤晓荣. 红藻育种研究进展[J]. 海洋科学, 2003, 27(6): 25-30.
- [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.
- [21] 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 [J]. 海洋与湖沼, 1986, 17(3): 217-221.
- [22] 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(3): 39-54.
- [23] 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.
- [24] 陈敏资, 侯和胜, 刘海涛, 等. 三十烷醇对几种单细胞藻生长影响的研究[J]. 海洋与湖沼, 1994, 25(5): 510-514.
- [25] 李雅娟, 刘淑范, 李梅. 3种植物生长激素对2种底栖硅藻

藻生长速率的影响[J]. 中国水产科学, 2002, 9(1): 18-21.

[26] 石利利. 三十烷醇在水体中的光解与水解特性[J]. 农业生态环境, 1997, 13(4): 55-56.



图版 三十烷醇浸泡后坛紫菜 WT 品系叶状体的生长情况

Plate Growth of blades of the wild-type strains in *Pyropia haitanensis* after being treated with triacontanol

1、6、11、16 为对照组中的 WT 叶状体；2、7、12、17 为 1×10^{-7} 浸泡处理过的 WT 叶状体；3、8、13、18 为 3×10^{-7} 浸泡处理过的 WT 叶状体；4、9、14、19 为 5×10^{-7} 浸泡处理过的 WT 叶状体；5、10、15、20 为 7×10^{-7} 浸泡处理过的 WT 叶状体。其中 1~5 为培养后 10 d 的 WT 叶状体；6~10 为培养后 15 d 的 WT 叶状体；11~15 为培养后 20 d 的 WT 叶状体；16~20 为培养后 25 d 的 WT 叶状体。

The effect of triacontanol on the growth of gametophytic blades in *Pyropia haitanensis*

ZHANG Huan-huan¹, LI Lin¹, YAN Xing-hong^{1,2}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. The Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To study the effect of triacontanol on the growth of gametophytic blades of the wild type strain (*WT*) in *Pyropia haitanensis*, the blades of *WT* strain were immersed in triacontanol solution at concentration of 1×10^{-7} , 3×10^{-7} , 5×10^{-7} and 7×10^{-7} for one day static culture respectively. Then the blades were transferred to aeration culture with normal culture medium. The results showed that, after 25 days of culture, 3×10^{-7} had the best treatment effect, 5×10^{-7} took the second place, 1×10^{-7} triacontanol treated blades almost had no difference with the control group, while 7×10^{-7} inhibited the growth of blades. Compared to the control group, the mean length of blades strain treated with 3×10^{-7} triacontanol increased by 94.92%, and chlorophyll a, phycoerythrin and phycocyanin increased by 26.00%, 92.88% and 84.89%, respectively. The effect of triacontanol on the growth of blades of the *WT* strain showed initial increase then decrease, and the promotion effect could maintain about 20 days after treatment. These results revealed that 3×10^{-7} triacontanol could constantly accelerate the growth of blades, and increase the contents of photosynthetic pigment and chromoproteins in the blades.

Key words: *Pyropia haitanensis*; gametophytic blade; triacontanol; immerse; growth