

研究简报

条斑紫菜固定化细胞育苗技术的应用试验

APPLICATION OF BREEDING TECHNIQUE WITH IMMOBILIZED CELLS IN *PORPHYRA* *YEZOENSIS* IN CULTIVATIVE PRODUCTION

王素娟 何培民 Wang Sujuan and He Peimin
(上海水产大学, 200090) (Shanghai Fisheries University, 200090)

关键词 条斑紫菜, 固定化细胞, 育苗

KEYWORDS *Porphyra yezoensis*, immobilized cells, breeding

我国于80年代初,就开始了紫菜体细胞育苗的研究。赵焕登、张学成(1981, 1984),方宗熙等(1986),戴继勋等(1988)报道了条斑紫菜体细胞直接附网育苗及其下海养殖试验研究;对于坛紫菜,方宗熙等(1936),王素娟等(1987),戴继勋等(1988)报道了其体细胞直接附网育苗及其下海养殖试验研究。该育苗技术育苗时间至少需要15天左右,且育苗室占地面积大,在生产上难于推广。最近,王素娟等(1991)根据条斑紫菜细胞团能释放一种类似单孢子的“孢子”的特殊发育途径,成功地利用其放散的孢子进行采苗及下海养殖试验。为使紫菜体细胞育苗技术更实用化,我们又采用了固定化细胞新技术,进行条斑紫菜固定化细胞育苗及海上养殖试验,以克服细胞直接附网育苗的缺点,旨在缩短室内培养时间,节约育苗室占地面积,操作简便,能够广泛应用于紫菜养殖生产上。

材料与方 法

1. 种藻来源 本实验用的种藻采集于江苏启东市吕东乡海丰村海区的紫菜养殖架上,采集日期为1990年3月,采集的紫菜经阴干后,密封于双层塑料袋薄膜中,置于低温(-20°C)冰箱中保存备用。

2. 种藻复苏 从冰箱中取出的种藻立即放入室温(20°C),海水中复苏3天,并予以12L:12D的光照,加入一定量的氮和磷盐,让其充分复苏。

3. 细胞分离 用毛笔在消毒过海水中洗刷藻体3次,并除去藻体的边缘及基部,然后切成1mm²大小的碎片,经消毒海水清洗后,放入酶液中,酶液由0.7%甘露醇中加入2%海螺酶和0.5%纤维素酶配制而成。酶解温度为25°—28°C,酶解时间为1.5—3.0小时。结束后,用尼龙筛绢过滤以除去大碎片,滤液离心5分钟(1500转/分钟),除去酶液,再用比重为1.030海水冲洗,离心各三次。收集的细胞用来进行悬浮培养。

4. 悬浮培养方法 把细胞放入水族箱(30×40×100cm³)中60升水体中,其细胞密度为1—2.5×10⁴细胞/ml。用电力搅拌器进行搅拌悬浮培养,转速为80—200转/分。

收稿年月:1991年8月;1992年3月修改。

5. 培养条件 培养基为MES液(加富海水培养液,文献[2]),温度为20°C左右,光照强度为1000—3000lux,光源为荧光灯,光周期为12L:12D。

6. 细胞固定 把网放入700ml的一定细胞密度的细胞液中,使细胞吸附在网上,再涂抹一定浓度的褐藻酸钠于细胞网绳上,之后放入含有钙离子的海水中,使细胞固定于网绳上。

7. 海上养殖 固定化细胞网放于江苏省启东市吕东乡海丰村海区进行海上养殖,养殖方法为半浮动筏式养殖。

结果与讨论

(一) 海上育苗及养殖

1990年9—10月,我们在江苏省启东市吕东乡海丰村育苗室进行固定化细胞育苗试验。

经6天悬浮培养的细胞或细胞团固定于12个维尼纶生产网上,于次日(1991年10月5日)放下海进行海上育苗及养殖。

细胞包埋于藻胶中,不易被海浪冲击掉,还能在大自然海洋中充分吸收养分快速生长,部分细胞直接分裂形成单细胞苗,而大部分细胞能逐步先形成细胞团,然后放散孢子,孢子能立即附着萌发成孢子苗。所形成的两种细胞苗仍具有放散单孢子的特点,生长到一定时,在一定温度条件下能大量放散单孢子,单孢子就近附着萌发成苗,因此,随着养殖时间增长,细胞苗网的紫菜苗越来越密(见图版,5—8)。

经2个月的养殖,细胞苗长可达5—15cm,苗的密度与细胞附着的多少有一定相关性,附着细胞数越多,则细胞苗越密(见表1)。其中最好的实验苗网能达到传统苗的最好水平。

另外,我们还设置了一个空白网,放入海上养殖2—3个月,网上几乎没有紫菜苗,这证明,实验网上的苗是来自于细胞苗,而不是来自于同一海区的传统苗放散的单孢子苗。

养殖近三个月后开始收割,从1990年12月29日第一次收割,到1991年4月21日左右养殖结束,共收割五次(见图1),总计收割鲜重大约280公斤,折合每公顷产量为12600公斤左右,高于当地的平均产量。这说明用固定化细胞育苗能保证苗的密度,从而保证了紫菜的产量。

(二) 不同附着细胞密度网苗密度的比较

在实验网中,共设置了6个不同细胞附着密度,即:1×10⁶细胞/网(1个网),5×10⁴细胞/网(1个网),1×10⁵细胞/网(1个网),2×10⁵细胞/网(1个网),3×10⁵细胞/网(1个网),5×10⁵细胞/网(6个网)。其结果见附表。

从附表中可以看出,细胞数附着越多,细胞苗则越密,例如6—12号网,细胞数附着最多达5×10⁵细胞/网,其细胞苗最密,长势最好,养殖2个月后,其苗长达10—15cm,其苗密度接近于传统苗网的最好水平(见图版—4,8);而1号网,细胞苗分布不均匀,有的地方细胞苗较密,且其苗长可达10cm左右,但有的地方出现空白(见图版—2,5);2号网也是如此,苗密的地方可达到6—12号网的水平(见图版—6),从整体来说,可达到传统苗网的中等水平;3—5号网的密度能达到传统苗网的中上水平,其苗长

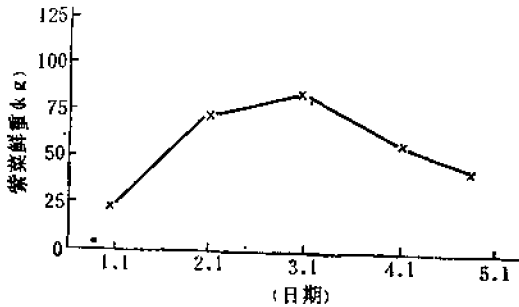


图1 细胞苗紫菜收割重量变化(1991)

Fig. 1 Changes of thalli from cell seedlings in 1991

可达 8—15cm(见图版—3, 7)。

一般来说,在保证达到养殖生产要求的前提下,还要求尽量减少每网细胞用量,这样可降低细胞育苗成本,经济效益更大。如密度为 5×10^6 细胞/网的细胞用量只为 5×10^7 细胞/网密度的细胞用量的十分之一,也即酶的用量可降低 10%。

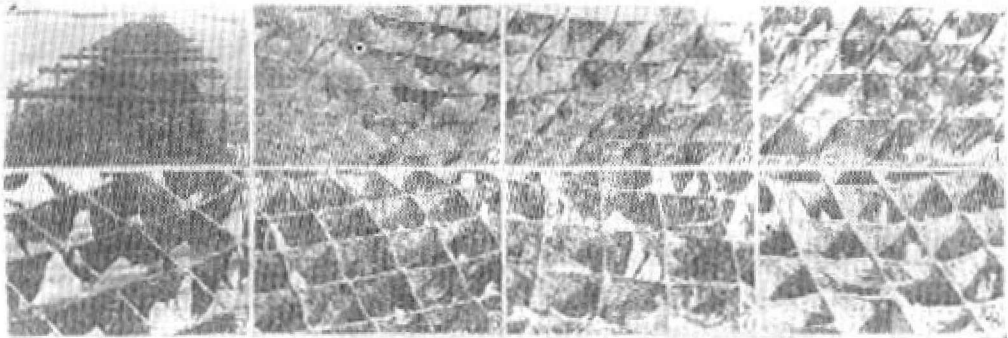
另外,能否充分利用单孢子苗增加苗的密度与苗网下海时间及养殖技术很有关系。从当地本年度的紫菜养殖来看,单孢子苗利用率不高,这同时也说明,在细胞用量上还有很大的潜力可挖。

表 1 细胞苗下海养殖二个月生长情况(1990)

Table 1 Cultivation of cell seedlings on seafield after 2 month in 1990

网 号	网 数	每网固定细胞数 (细胞/网)	细胞苗长度 (cm)	细胞苗密度及长势
1	1	1×10^6	5—10	++
2	1	5×10^6	5—12	+++
3	1	1×10^7	8—15	++++
4	1	2×10^7	8—15	++++
5	1	3×10^7	8—15	++++
6	1	5×10^7	10—15	+++++
7	1	5×10^7	10—15	+++++
8	1	5×10^7	10—15	+++++
9	1	5×10^7	10—15	+++++
10	1	5×10^7	10—15	+++++
11	1	5×10^7	10—15	+++++
12	1	5×10^7	10—15	+++++
13	1	0	—	—

注: +++++ 表示最好水平;++++ 表示中上水平;+++ 表示中等水平;++ 表示中下水平。



图版说明 Explanation of plate

1. 示 12 只细胞苗网下海养殖苗生长全貌。2. 示附着细胞数为 1×10^6 细胞的细胞苗网苗生长情况, 其苗长为 5—10cm 左右。3. 示附着细胞数为 3×10^7 个细胞的细胞苗网苗生长情况, 其苗长为 8—15cm 左右。4. 示附着细胞数为 5×10^7 个细胞的细胞苗网苗生长情况, 其苗长为 10—15cm 左右。2—4. 细胞苗网下海养殖了二个月。5. 示附着细胞数为 1×10^6 个细胞的细胞苗网苗生长情况。6. 示附着细胞数为 5×10^6 个细胞的细胞苗网苗生长情况。7. 示附着细胞数为 1×10^7 个细胞的细胞苗网苗生长情况。8. 示附着细胞数为 5×10^7 个细胞的细胞苗网苗生长情况。5—8. 细胞苗网下海养殖了 100 天左右, 20 天前曾收割过一次。

结 束 语

在高等植物的生物技术育种中,“人工种子”早已应用于农作物大面积生产了,而在紫菜育种中,固定化细胞育苗还是首次使用,从上述结果看,该项技术是具有推广应用的实用价值,它可以把紫菜育苗时间缩短1—6天;另外再加上细胞悬浮培养技术的配套,能大大节约育苗室占地面积,从而降低育苗固定资产的投资。因此说,紫菜固定化细胞育苗具有很大的经济效益及明显的社会效益,我们相信,随着技术的不断配套和完善,该项技术在不远的将来,将会广泛地应用于生产上为我国及世界的紫菜养殖业带来很大的发展。

参 考 文 献

- [1] 方宗熙等,1986。紫菜营养细胞的酶法分解和在水产养殖中的应用。海洋科学,10(3):46—47。
- [2] 王素娟等,1986。坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究I。海洋与湖沼,17(3):217—221。
- [3] ——,1987。坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究II。直接下海养殖实验研究。海洋科学,11(1):1—7。
- [4] 中国科学院海洋研究所藻类实验生态组、藻类分类形态组,1978。条斑紫菜的人工养殖,科学出版社(京)。
- [5] 卢澄清,1983。紫菜叶状体营养细胞的研究。I。条斑紫菜营养细胞的分离、培养和长成小紫菜的观察,第一届中国藻类学术讨论会文集,45—49,科学出版社(京)。
- [6] 何培民、王素娟,1991。条斑紫菜细胞培养及其总氮量和氨基酸分析,水产学报,15(1):48—54。
- [7] 赵焕登、张学成,1981。条斑紫菜营养细胞的分离与培养,山东海洋学院学报,11(1):61—65。
- [8] ——,1984。条斑紫菜营养细胞的分离培养和试验,水产学报,8(3):197—202。
- [9] 戴继航等,1988。紫菜叶状体细胞的酶法分离及其养殖研究。生物工程学报,4(2):133—137。

欢迎订阅《淡水渔业》

《淡水渔业》创刊于1971年,是中国水产学会主办,中国水产科学研究院长江水产研究所编辑出版的中级科技期刊,主要登载科研报告、生产经验及综述评论等,力求为读者提供最新水产科技信息。

本刊的编辑方针是提高与普及相结合,为科研和生产服务。欢迎各科研、教学、生产、管理单位的水产技术人员、水产院校师生及广大渔业工人、农村养鱼专业户订阅。

本刊为双月刊,每期48页,国内外发行。本刊承接各种广告,发行量大,效果好,敬请惠顾。

1993年,本刊将进一步提高编辑质量和外观质量,定价不变(每期1.25元,全年7.50元),请您速到当地邮局(所)订阅1993年度的《淡水渔业》。

《淡水渔业》国内统一刊号:CN42—1138,国内发行代号:36—32,国际标准连续出版物编号:ISSN1000—6907。

编辑部地址:湖北省沙市市,邮政编码:434000