

◆海洋科学◆

酸处理对栽培条斑紫菜及其附生缘管浒苔的影响*

朱朋昌^{1,2},周伟^{2,3},胡传明^{2**},李帅⁴,邓银银²,田翠翠²

(1. 江苏海洋大学,江苏省海洋生物技术重点实验室,江苏连云港 222005;2. 江苏省海洋水产研究所,江苏南通 226007;3. 江苏省农业种质资源保护与利用平台,江苏南京 210014;4. 上海海洋大学,上海 201306)

摘要:酸处理是清除条斑紫菜(*Neopyropia yezoensis*)栽培过程中附生绿藻的主要方法之一,酸处理时间与pH值是影响条斑紫菜与绿藻活性的重要因素。本研究以半浮式紫菜筏架上的条斑紫菜及其附生缘管浒苔(*Ulva linza*)为研究对象,研究40 s浸泡时间下不同pH值的盐酸海水溶液对条斑紫菜和缘管浒苔的影响。结果显示,pH值对缘管浒苔的影响大于条斑紫菜,盐酸海水溶液浸泡40 s时间下杀灭紫菜附生缘管浒苔的最佳pH值为1.9。酸处理7 d后,条斑紫菜pH 1.9处理组的超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)含量、最大光化学量子效率(F_v/F_m)值以及叶绿素a(Chl a)与类胡萝卜素(Car)含量与酸处理前相比均无显著差别,而缘管浒苔的SOD、POD活性和MDA含量均显著降低, F_v/F_m 值下降到0.2以下,Chl a与Car含量下降为0;在pH 1.7及以下处理组中,条斑紫菜与缘管浒苔以上生理参数与物质含量均显著低于初始值。据此并总结前人研究,推导出在pH值为0.3-1.9时,杀灭条斑紫菜附生缘管浒苔并保持紫菜活性的线性回归方程 $y(\text{时间},s) = 21.69x(\text{pH值}) - 1.31$ 。通过对条斑紫菜与缘管浒苔在酸处理时的生理生化响应研究,提高国内紫菜从业者对酸处理技术的认识,推动紫菜栽培技术的进步。

关键词:条斑紫菜;缘管浒苔;酸处理;光合系统;抗氧化系统

中图分类号:S968.43+1 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2023)02-0311-09

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230529.010

条斑紫菜(*Neopyropia yezoensis*)属红藻门(Rhodophyte)红藻纲(Rhodophyceae)红毛菜目(Bangiiales)红毛菜科(Bangiaceae)紫菜属(*Neopyropia*)^[1]。条斑紫菜是中国、日本和韩国主要的紫菜

栽培品种,具有较高的经济价值,2020年我国江苏省紫菜行业总产值约200亿元,整个行业从业人员14-15万人(江苏省紫菜协会提供,http://www.js-laver.com/index.php/Home/Index/hydt.html)。

收稿日期:2022-02-22

修回日期:2022-03-14

*南通市科技计划项目(MS22021016),江苏紫菜产业技术体系项目(JATS[2022]421,JATS[2021]419),江苏揭榜挂帅项目(JBGS[2021]033),江苏省研究生实践创新计划项目(SJCX20_1295),国家藻类产业技术体系项目(CARS-50)和鳌山计划项目(2016ASKJ02-01-07)资助。

【第一作者简介】

朱朋昌(1996-),男,在读硕士研究生,主要从事紫菜病害防治研究,E-mail:2219722204@qq.com。

【**通信作者】

胡传明(1980-),男,正高级工程师,主要从事紫菜育种与栽培技术研究,E-mail:hucharming@163.com。

【引用本文】

朱朋昌,周伟,胡传明,等.酸处理对栽培条斑紫菜及其附生缘管浒苔的影响[J].广西科学,2023,30(2):311-319.

ZHU P C,ZHOU W,HU C M,et al. Effects of Acid Treatment on *Neopyropia Yezoensis* and Its Epiphytic *Ulva Linza* [J]. Guangxi Sciences, 2023,30(2):311-319.

此外,条斑紫菜也具有较高的生态修复能力,可以从栽培海区吸收大量的氮、磷,降低富营养化指数,并固定碳,增加海洋碳汇^[2]。

绿藻是条斑紫菜栽培中主要的附生杂藻,分布在栽培筏架的毛竹、缆绳、网帘等各处,筏架绿藻生物量具有显著的双峰特征,即每年的9月、11月以及次年的3-5月为筏架绿藻生长旺盛时期^[3]。附着在筏架上的绿藻与紫菜竞争生态位、抑制紫菜生长^[4]。采收的紫菜中混入绿藻,不仅需要消耗大量人力予以清除,还会降低紫菜质量。目前,清除紫菜养殖筏架绿藻的方法主要有干露法^[5-7]、冷藏网技术^[8,9]、氧化除藻剂等方法^[10-11]。此外,酸处理也是一种高效清除筏架绿藻的方法^[12-15]。并且酸处理具有杀灭藻体叶表动物(Phytoplankton animals)^[16],降低紫菜重金属含量^[17],治理赤腐病^[18]、Suminori病^[19],驱除硅藻与蓝藻^[20]以及提高紫菜品质的作用^[14]。目前,关于酸处理对条斑紫菜及其附生绿藻活性的影响仍缺乏系统研究,有待进一步完善。

1977年日本千叶县渔民发现浒苔(*Ulva prolifera*)和紫菜在不同pH值下的致死时间存在差异,建立了紫菜栽培酸处理技术,并以此法处理浒苔。1984年日本水产厅规定了酸处理及后续管理方法,开始用有机酸替代无机酸^[18]。韩国则是从20世纪80年代末开始重视紫菜栽培中酸处理的必要性^[15],酸处理成本甚至占到了栽培成本的1/2,因此,1995年开始由政府与地方补贴有机酸的费用^[21]。而酸处理技术只应用于我国紫菜支柱式栽培业,且目的单一、方法粗放,只是采用浸酸法清除海区出苗期的浒苔,并通过观察紫菜与浒苔颜色变化评估酸处理效果。半浮式与全浮式栽培模式则未有酸处理技术的应用,更缺乏相关技术文献与标准。目前,日本和韩国的条斑紫菜的单产水平显著高于中国,原因除了与品种和海区有关外,结合酸处理技术的栽培方式也是重要因素。因此,国内的紫菜栽培业迫切需要建立并完善紫菜栽培的酸处理技术,推动该技术的落地。

本研究以条斑紫菜及其附着绿藻为研究对象,通过测定经盐酸溶液处理40s后的条斑紫菜和绿藻的光合效率、光合色素与丙二醛(MDA)含量以及抗氧化酶活性变化,探讨不同pH值的盐酸溶液对条斑紫菜和绿藻光合生理与抗氧化生理的影响,为防治栽培条斑紫菜附生绿藻提供科学基础,提高国内紫菜从业者对酸处理技术的重视程度,从而推动紫菜栽培技术的进步。

1 材料与方法

1.1 实验材料和酸处理方法

条斑紫菜与绿藻样品于2021年3月取自江苏南通海域紫菜养殖筏架。条斑紫菜与绿藻样品清洗后分别放入3% PES营养液海水中恢复培养2d,光照强度 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光周期为12D:12L,温度 10°C 。绿藻样品经形态学鉴定为缘管浒苔(*U. linza*),挑取健康完整的、长度5-10cm的条斑紫菜和长度10-30cm的缘管浒苔藻体进行实验。

使用11.6 mol/L浓盐酸与pH值为8.0的天然灭菌海水配置不同pH值(pH值为1.1、1.4、1.7、1.9)4个浓度的盐酸溶液(分别记为pH 1.1、pH 1.4、pH 1.7、pH 1.9处理组),并以pH值为8.0的海水作为对照。取一定量条斑紫菜与缘管浒苔浸入5组溶液中搅拌40s后取出,海水清洗多余盐酸溶液后放入 1 m^3 流动海水中培养,海水pH值保持稳定,培养条件同上。分别于处理前、处理2d和7d后对藻体进行观察、拍照,并进行叶绿素荧光参数、色素含量、MDA含量以及抗氧化酶活性测定。

1.2 藻体生长状态与光合色素含量变化

取不同处理的条斑紫菜与缘管浒苔藻体,吸干表面水分后称取 $(0.10 \pm 0.02) \text{ g}$,加入液氮充分研磨,再用8 mL 100%甲醇浸提,避光静置24h后,于 4°C 、5000 r/min下离心10 min,用紫外可见分光光度计(UV-2450,日本岛津)测定上清液的吸光值(OD),对照液为100%甲醇。叶绿素a(Chl a)和类胡萝卜素(Car)含量的测定参考Wellburn^[22]的方法,具体计算公式如下:

$$\text{Chl } a \text{ (mg/g)} = [16.29 \times (OD_{665} - OD_{750}) - 8.54 \times OD_{652} - OD_{750}]V / (1000 Fw),$$

$$\text{Car (mg/g)} = \{7.6 \times [(OD_{480} - OD_{750}) - 1.49 \times (OD_{510} - OD_{750})]\}V / (1000 Fw),$$

其中, OD_{665} 、 OD_{750} 、 OD_{652} 、 OD_{480} 、 OD_{510} 分别代表在波长665、750、652、480、510 nm处的吸光值;V代表提取液体积(mL);Fw表示海藻的鲜重(g)。

1.3 叶绿素荧光参数的测定

将紫菜和缘管浒苔置于黑暗条件下处理20 min后用调制叶绿素荧光仪(PAM II,德国WALZ)测定藻体光系统II(PS II)最大光化学量子效率(Fv/Fm)值,每组实验5个重复。

1.4 抗氧化酶SOD、POD和脂质过氧化产物MDA测定

MDA、超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化物酶

(POD)值均采用南京建成试剂盒测定,设置3个生物学重复。

1.5 线性拟合最佳酸处理条件

选取文献[14,20]中酸处理法杀灭缘管浒苔的最佳pH值、时间与本研究中最优的pH值、酸处理时间进行线性拟合。选取条件为缘管浒苔细胞死亡率 $\geq 90\%$ 或 F_v/F_m 值 < 0.2 ,且条斑紫菜细胞死亡率 $< 1\%$ 或 F_v/F_m 值与对照组没有显著差别。

1.6 数据处理

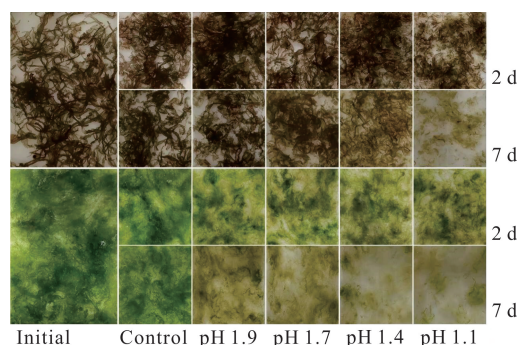
采用 Origin 7.0 软件进行数据处理与作图,用 One-way ANOVA 检验差异显著水平,设置显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 酸处理对藻体状态与光合色素的影响

条斑紫菜 pH 1.9 处理组恢复培养 7 d 内藻体颜色无明显变化(图 1),叶绿素 *a*、类胡萝卜素含量与初始值相比均没有显著区别(表 1)。经 pH 值为 1.1、pH 值为 1.4 和 pH 值为 1.7 的盐酸溶液处理的条斑紫菜的叶绿素 *a* 与类胡萝卜素含量在第 2 天显著下降,此时仅 pH 1.1 处理组颜色变淡,其他处理组条

斑紫菜颜色变化不显著。随着 pH 值降低和恢复培养时间增加,叶绿素 *a* 与类胡萝卜素含量呈递减趋势,处理 7 d 后,条斑紫菜藻体除 pH 1.9 处理组外,其他处理组颜色均有一定程度变浅。而在酸处理 2 d 后所有缘管浒苔处理组颜色均显著变为黄绿色,叶绿素 *a* 与类胡萝卜素含量均显著下降,在处理 7 d 后,缘管浒苔藻体均变白,仅有少量藻体呈黄绿色,叶绿素 *a* 与类胡萝卜素含量均无法检测到。



Above is *N. yezoensis*, below is *U. linza*.

图 1 不同 pH 值与恢复时间下条斑紫菜与缘管浒苔的状态

Fig. 1 Activities of *N. yezoensis* and *U. linza* under different pH value and recovery time

表 1 不同 pH 值盐酸溶液处理对藻体叶绿素 *a* 与类胡萝卜素含量的影响

Table 1 Effect of treatment with different pH value of HCl solution on the content of Chl *a* and Car $n = 3, x \pm SD / (\text{mg/g})$

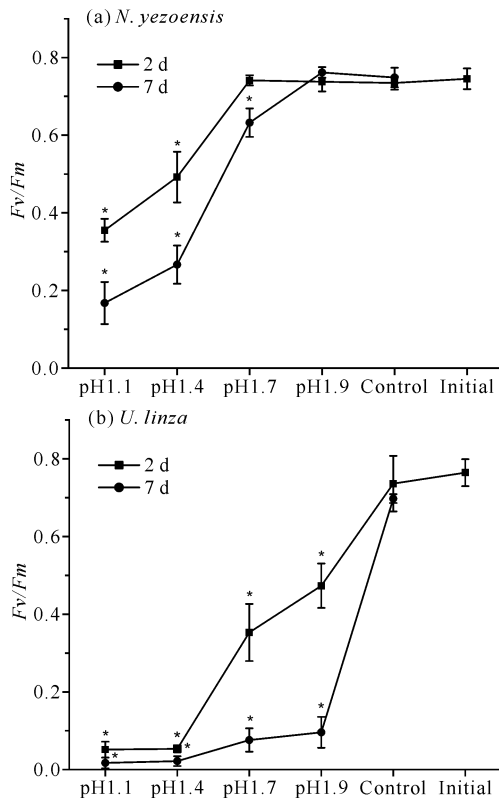
| 恢复时间/(d) Recovery time/(d) | 处理条件 Treatment condition | 条斑紫菜 <i>N. yezoensis</i> | | 缘管浒苔 <i>U. linza</i> | |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------|----------------------|--------------|
| | | Chl <i>a</i> | Car | Chl <i>a</i> | Car |
| 0 | Initial value | 0.71 ± 0.00 | 0.29 ± 0.01 | 0.39 ± 0.01 | 0.28 ± 0.01 |
| 2 | Control | 0.73 ± 0.03 | 0.31 ± 0.02 | 0.40 ± 0.02 | 0.27 ± 0.00 |
| | pH 1.9 | 0.74 ± 0.03 | 0.31 ± 0.02 | 0.21 ± 0.02* | 0.04 ± 0.00* |
| | pH 1.7 | 0.48 ± 0.01* | 0.20 ± 0.00* | 0.16 ± 0.01* | 0.02 ± 0.00* |
| | pH 1.4 | 0.35 ± 0.01* | 0.14 ± 0.02* | 0.12 ± 0.00* | 0.03 ± 0.00* |
| | pH 1.1 | 0.35 ± 0.01* | 0.11 ± 0.01* | 0.07 ± 0.01* | 0.04 ± 0.00* |
| 7 | Control | 0.72 ± 0.02 | 0.31 ± 0.02 | 0.40 ± 0.01 | 0.26 ± 0.01 |
| | pH 1.9 | 0.73 ± 0.02 | 0.29 ± 0.01 | — | — |
| | pH 1.7 | 0.30 ± 0.04* | 0.13 ± 0.02* | — | — |
| | pH 1.4 | 0.20 ± 0.01* | 0.08 ± 0.00* | — | — |
| | pH 1.1 | 0.09 ± 0.00* | 0.03 ± 0.00* | — | — |

Note: * indicate significant differences compared to initial values.

2.2 酸处理对藻体叶绿素荧光参数的影响

经盐酸溶液处理 2 d 后,条斑紫菜 pH 1.1 和 pH 1.4 处理组 F_v/F_m 值显著下降,到第 7 天, F_v/F_m 值分别下降至 0.1676 ± 0.5433 、 0.2666 ± 0.0492 ; pH 1.7 处理组在第 2 d 未有显著下降,第 7 天下降

至 0.6324 ± 0.0366 ; pH 1.9 处理组在 7 d 之内 F_v/F_m 值均未有显著变化[图 2(a)]。经盐酸溶液处理并恢复培养 2 d 后,缘管浒苔 pH 1.1 至 pH 1.9 处理组 F_v/F_m 值均呈现显著下降趋势,恢复培养第 7 天, F_v/F_m 值均下降至 0.1 以下[图 2(b)]。



* indicate significant differences compared to initial values.

图2 不同pH值盐酸溶液处理对藻体 F_v/F_m 的影响

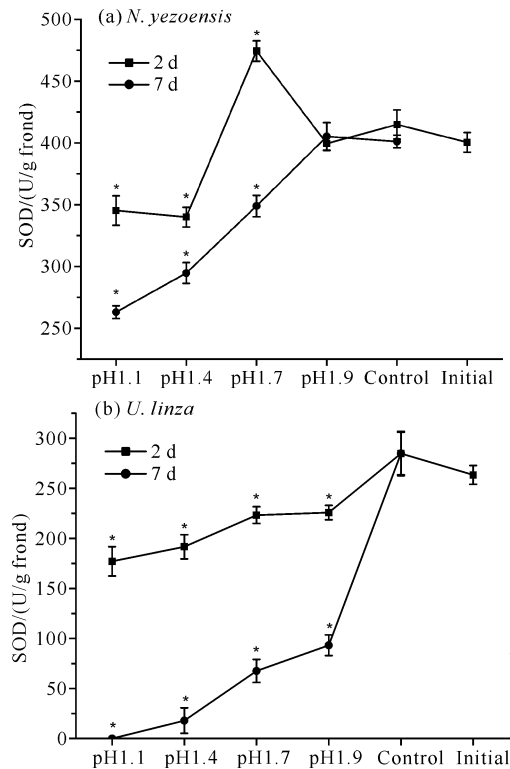
Fig. 2 Effect of treatment with different pH value of HCl solution on F_v/F_m

2.3 酸处理对藻体抗氧化系统的影响

经pH值为1.9的盐酸溶液处理2d与7d后,条斑紫菜的SOD活性较初始值均未发生显著变化。经pH值为1.7的盐酸溶液处理,条斑紫菜的SOD活性在第2天较初始值显著上升,在第7天显著下降。而条斑紫菜pH 1.1和pH 1.4处理组在恢复培养的2d与7d,SOD活性与初始值相比均显著下降[图3(a)]。pH值为1.1-1.9的盐酸溶液处理的缘管浒苔的SOD活性在第2天与第7天较初始值均显著下降,且随pH值下降与恢复时间增加呈下降趋势[图3(b)]。

除pH 1.9处理组外,条斑紫菜的POD活性随着酸处理pH值的下降与处理时间增加呈下降趋势,其中pH 1.1处理组在第7天的POD活性下降为0[图4(a)]。经pH值为1.1-1.9的盐酸溶液处理的缘管浒苔在恢复培养2d后即无法检测到POD活性[图4(b)]。

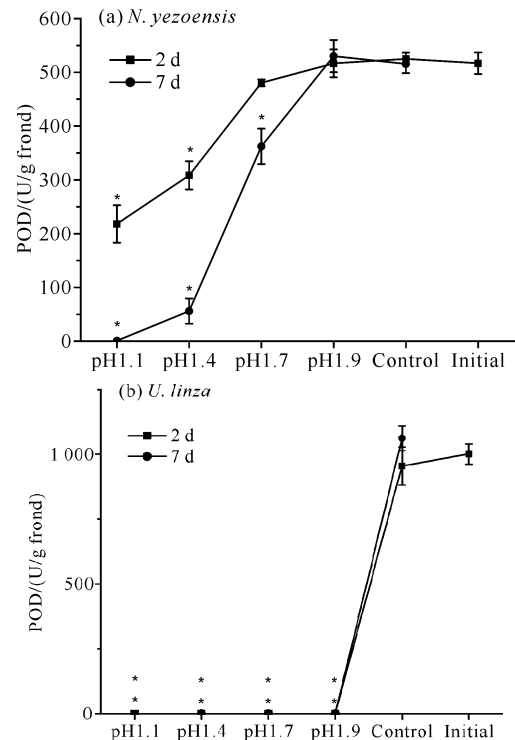
与SOD活性变化相似,经pH值为1.9的盐酸溶液处理的条斑紫菜在处理后的恢复培养第2天与第7天,其MDA含量较初始值均未有显著改变;而pH



* indicate significant differences compared to initial values.

图3 不同pH值盐酸溶液处理对藻体SOD活性的影响

Fig. 3 Effect of treatment with different pH value of HCl solution on SOD activity

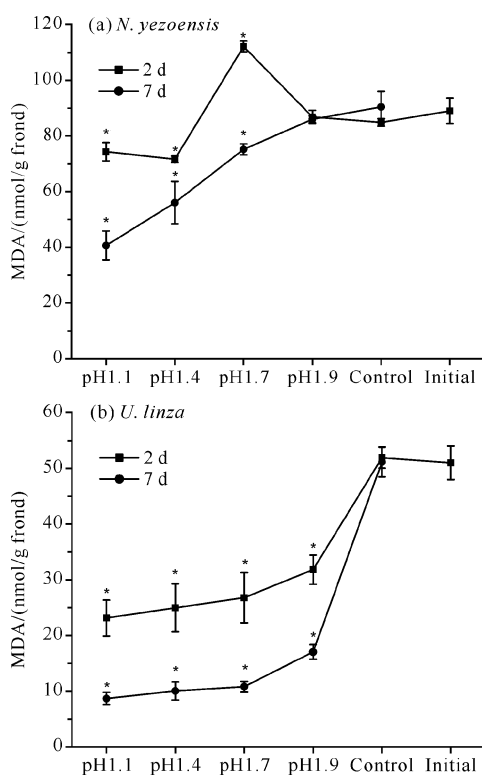


* indicate significant differences compared to initial values.

图4 不同pH值盐酸溶液处理对紫菜POD活性的影响

Fig. 4 Effect of treatment with different pH value of HCl solution on POD activity

1.7 处理组在第 2 天的 MDA 含量较初始值显著上升,在第 7 天显著下降;pH 1.1、pH 1.4 处理组的 MDA 含量较初始值显著下降[图 5(a)]。缘管浒苔所有处理组的 MDA 含量在酸处理 2 d 后就显著下降,且在酸处理 7 d 后进一步下降[图 5(b)]。



* indicate significant differences compared to initial values.

图 5 不同 pH 值盐酸溶液处理对藻体 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effect of treatment with different pH value of HCl solution on the MDA content

2.4 最佳酸处理条件预测

根据 Kang 等^[20]的研究,采用 pH 值为 8.0 的海水配置 8%、6% 的盐酸海水溶液,测得 2 种溶液 pH 值分别为 0.3、0.5,其处理条斑紫菜中缘管浒苔的最佳时间分别为 5、10 s,并结合 이상용等^[14]的实验处理条件:pH 值为 1.0 的酸溶液处理 20 s,以及本研究最佳酸处理条件:pH 值为 1.9 的酸溶液处理 40 s,以 pH 值为横坐标、处理时间为纵坐标进行线性拟合,得到线性方程 $y = 21.69x - 1.31$, $R^2 = 0.9994$ 。其中 y 为酸处理时间(s), x 为酸处理溶液 pH 值, R^2 为线性回归决定系数(图 6)。在 pH 值为 0.3 - 1.9 时,酸处理时间与酸处理溶液 pH 值呈正相关,pH 值越高,所需酸处理时间越长。

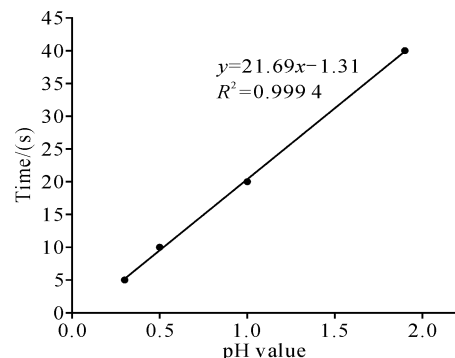


图 6 最佳酸处理条件线性回归方程

Fig. 6 Linear regression equation of optimum acid treatment conditions

3 讨论

3.1 酸处理对藻体生长状态的影响

判断酸处理对藻体细胞杀灭效果的方式各不相同。이상용等^[14]在酸处理后即采用 0.1% 的赤藓红染色测定藻体细胞死亡率,严兴洪等^[12]通过计算酸浸泡后恢复培养 96 h 的坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)与浒苔的细胞死亡率来分析酸处理效果,Kang 等^[20]认为酸处理后恢复培养 24 h 的条斑紫菜与缘管浒苔的生理状态与 48 h 无异,并采用 F_v/F_m 值评价缘管浒苔的杀灭效果以及紫菜的恢复状态。本实验中,条斑紫菜在不同浓度盐酸溶液中浸泡 40 s 后颜色均未发生显著变化,而缘管浒苔颜色由绿色变为黄绿色。恢复培养 2 d,pH 1.7 及以下处理组的条斑紫菜颜色逐渐变淡,至第 7 天,仅 pH 1.1 处理组的条斑紫菜颜色几乎完全变白,视为完全死亡,其他处理组仍呈浅紫黑色,藻体部分细胞死亡,部分仍为正常状态,而缘管浒苔所有处理组恢复培养 2 d,大部分细胞仍呈不健康的灰绿色,至第 7 天颜色才变为浅黄绿色至白色。因此,由于紫菜与绿藻藻体对酸的耐受性差异,短时间恢复效果并不能充分解释酸处理的实际效果,需要延长恢复培养时间并结合不同手段予以判断。

3.2 酸处理对藻体光合系统和光合色素的影响

PS II 在光合作用的光能吸收和转换中起着重要的作用,而 F_v/F_m 值可以反映 PS II 反应中心潜在的最大转换效率^[23,24]。PS II 具备一个高效的修复机制,在酸浓度较低或处理时间较短时,PS II 可以恢复,但当酸浓度较高或处理时间过长时,PS II 的损坏速率远超过修复速率,导致藻体 PS II 无法修复^[24]。Kang 等^[20]研究了酸处理对条斑紫菜与浒苔光合活

性的影响,认为 F_v/F_m 值为 0.183 可作为条斑紫菜遭受酸应激后光合活性损伤恢复与否的阈值。在经过浓度分别为 8%、6%、4% 的盐酸溶液分别处理 5、10、20 s 后,缘管浒苔的 F_v/F_m 值降为 0,而条斑紫菜的 F_v/F_m 值则无显著变化。经 pH 值为 4 的柠檬酸浸泡与 3 h 高光处理后恢复培养 24 h,浒苔的 F_v/F_m 值降为 0,而条斑紫菜的 F_v/F_m 值可恢复到对照组的 85%^[13]。本实验中,条斑紫菜藻体经 pH 值为 1.9 的盐酸溶液浸泡 40 s 后恢复培养 7 d, F_v/F_m 值与对照组无显著差异。说明条斑紫菜经 pH 值为 1.9 的盐酸溶液浸泡 40 s 后对光合系统没有显著影响。而缘管浒苔经酸处理后恢复培养 2 d, F_v/F_m 值显著下降,7 d 后 F_v/F_m 值均下降到 0.2 以下。这可能是由于 PS II 中的 Mn 中心被损坏导致能量失衡,从而导致 PS II 中的 D1 蛋白裂解,最终使 PS II 活性下降^[13,25]。pH 1.7 及以下处理组在恢复培养 7 d 后,条斑紫菜与缘管浒苔的 F_v/F_m 值显著下降,且缘管浒苔的下降幅度大于条斑紫菜,说明在酸胁迫下条斑紫菜的光适应能力强于缘管浒苔。

经盐酸溶液浸泡 40 s 并恢复培养 7 d 后, pH 1.1 至 pH 1.7 处理组的条斑紫菜叶绿素 *a* 含量下降到 0.3 mg/g 以下,缘管浒苔无法检测到叶绿素 *a* 含量,推测是由于 H^+ 置换叶绿素 *a* 中心的 Mg 离子导致叶绿素 *a* 结构破坏。且有研究表明类胡萝卜素在逆境下可以被活性氧 (ROS) 氧化,以减少 ROS 含量^[26],因此藻体类胡萝卜素的下降是类胡萝卜素被 ROS 氧化导致。而 pH 1.9 处理组条斑紫菜的叶绿素 *a* 含量与类胡萝卜素含量均与对照组无显著区别,说明在酸胁迫下条斑紫菜的光适应能力强于缘管浒苔,且经 pH 值为 1.9 的盐酸溶液浸泡 40 s 对条斑紫菜光合系统无显著影响。

3.3 酸处理对藻体抗氧化系统的影响

环境胁迫会诱导植物产生大量 ROS,过量的 ROS 会破坏细胞质膜的结构与功能,导致细胞生理功能紊乱^[27],植物通过提高保护酶活性以减少 ROS 对膜的伤害。SOD 可以将 ROS 歧化为 H_2O_2 和 O_2 ^[28]。POD 又可以将 SOD 歧化产生的 H_2O_2 分解成 H_2O 和 O_2 来使细胞质膜免受伤害^[29]。在本实验中,经 pH 值为 1.9 的盐酸溶液浸泡 40 s 的条斑紫菜在恢复培养 2 d 和 7 d 后,其 SOD、POD 活性和 MDA 含量与初始值没有显著性差异,表明条斑紫菜藻体抗氧化酶活性未遭受盐酸溶液胁迫或已恢复初始状态。条斑紫菜恢复培养 2 d, pH 1.7 处理组的

SOD 活性与 MDA 含量较初始值显著上升,恢复培养 7 d 后 SOD、POD 活性和 MDA 含量均显著下降。而条斑紫菜 pH 1.4 与 pH 1.1 处理组的 SOD、POD 活性和 MDA 含量在第 2 天即呈显著下降趋势,与缘管浒苔的所有酸处理组相似。推测随着 pH 值降低,POD 活性因过量 H^+ 的攻击而下降,这是由于 POD 为一种含 Fe-卟啉的血红蛋白^[30],主要存在于细胞壁或细胞的质外体部分,它与膜表面紧密结合^[31], H^+ 置换 Fe 离子造成酶失活。细胞通过产生 ROS 来降低 H^+ 还原势,过量 ROS 导致膜脂过氧化,MDA 是脂质过氧化的重要指标^[32,33],因而 MDA 含量增加。而条斑紫菜 SOD 为 Mn-SOD 型^[34],主要作用于线粒体中^[27],SOD 活性增加以清除多余 ROS,当 H^+ 量过多或 ROS 含量超过了细胞的调节能力,细胞活性难以恢复,导致 SOD、POD 活性与 MDA 含量较初始值均呈下降趋势。条斑紫菜在不同盐度 (35% - 65%) 胁迫下,随着时间 (2 - 12 h) 的增加,MDA 含量呈现先上升后下降的趋势,但仍高于初始值^[35];在失水 10% - 80% 条件下,MDA 含量则随失水率逐渐增加^[26],说明在此范围内,盐度与失水率的增加造成了条斑紫菜藻体的胁迫,仍未超过条斑紫菜细胞的调节能力,因此 MDA 含量始终高于初始值。而本研究中,条斑紫菜 pH 1.7 处理组的 MDA 含量与 SOD 活性在恢复培养 2 d 后高于初始值,说明此时细胞仍处于胁迫后应激反应阶段;7 d 后显著低于初始值,说明过多的 H^+ 超过了细胞的调节能力,抑制了 MDA 的生成与 SOD 的活性。

3.4 酸处理 pH 值与时间的关系

酸处理的浓度与处理时间是影响条斑紫菜及其附生杂藻活性的重要因素。坛紫菜在 pH 值为 2.3 的盐酸溶液中浸泡 1 - 5 min 细胞成活率均在 92% 以上,而处理 1 min 的浒苔细胞成活率为 15.1%,处理 3 min 和 5 min 的浒苔细胞成活率均低于 10%^[12]。pH 值为 1.0 的酸处理 20 s 可以使缘管浒苔细胞死亡率超过 90%,而条斑紫菜细胞死亡率小于 1%,pH 值为 1.5 的酸处理 30 s 后缘管浒苔细胞死亡率为 67.9%,而条斑紫菜细胞死亡率为 0.1%^[14]。经 0.08 mol/L 柠檬酸溶液处理 3 min 后石莼 (*U. lactuca*) 死亡率为 100%,而羊栖菜 (*Sargassum fusiforme*) 幼苗的 F_v/F_m 和最大电子传递速率 (ETR_m) 值在恢复培养 120 h 后均恢复到初始水平^[25]。通过上述研究结果可以看出浒苔、缘管浒苔和石莼相较于坛紫菜、条斑紫菜和羊栖菜耐酸性

差,这可能是由于石莼属绿藻,细胞壁较薄,使得 H^+ 轻易进入藻体并破坏叶绿素结构,导致藻体失去光合能力^[25]。在本实验中,经 pH 值为 1.9 的盐酸溶液处理后条斑紫菜的光合色素含量以及抗氧化酶活性均与酸处理前没有显著变化,颜色与对照组无异,而缘管浒苔光合色素含量以及抗氧化酶活性均显著下降,藻体颜色变白、死亡。说明在 pH 值为 1.9 的盐酸溶液中浸泡 40 s 可杀灭缘管浒苔而对条斑紫菜藻体没有显著影响。

3.5 酸处理技术应用与展望

前期海区酸处理测试中,将半浮筏式紫菜采收筏改造成酸处理筏,采用酸溶液行进式浸泡网帘的方法处理紫菜网帘,以达到除去网帘上杂藻的目的。酸处理筏在辐射沙洲海区进行了安装调试,根据处理筏行进速度,网帘浸入酸溶液至没入海水中的时间为 40 s,酸处理最适 pH 值为 1.9。在实际使用酸处理方法时,可根据线性方程 $y(\text{时间}, s) = 21.69x(\text{pH 值}) - 1.31$ 选择酸溶液的最佳 pH 值及其酸处理时间,在 pH 值为 0.3-1.9 时, pH 值越高,酸处理时间越长。但该线性方程仍需根据紫菜生长期以及天气等具体情况加以调整,并适时添加酸溶液或增减网帘接触酸溶液的时间。随着将来研究数据量的增加,对酸处理 pH 值及其酸处理时间的预测将更为准确。此外,海水的碱度具有一定缓冲能力,本研究团队也对该海区酸处理前后的海水 pH 值进行了监测,并未发现酸处理对周围海水酸碱度带来明显影响,但酸处理的即时用酸量是否对海洋浮游生物、游泳动物以及底栖生物等产生影响,有待进一步研究。

参考文献

- [1] YANG L E, DENG Y Y, XU G P, et al. Redefining *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta): four new genera, resurrection of *Porphyrella* and description of *Calidia pseudolobata* sp. nov. from China [J]. *Journal of Phycology*, 2020, 56(4): 862-879.
- [2] 陆勤勤,周伟,邓银银. 条斑紫菜栽培的经济效益与生态效益概述[J]. *中国水产*, 2016(1): 53-54.
- [3] 谢国兴,周永东,鲍胜华,等. 苏北浅滩半浮筏式条斑紫菜养殖区浒苔生态防治方法的思考[J]. *水产养殖*, 2021, 42(1): 69-70.
- [4] 张清春,孔凡洲,颜天,等. 苏北浅滩养殖筏架附生绿藻入海过程在黄海绿潮形成中的作用[J]. *海洋与湖泊*, 2018, 49(5): 1014-1020.
- [5] HUANG L B, PENG L N, YAN X H. Multi-omics responses of red algae *Pyropia haitanensis* to intertidal desiccation during low tides [J]. *Algal Research*, 2021, 58: 102376.
- [6] XU D, SONG X W, LI F T, et al. Effects of desiccation, diurnal temperature changes and irradiance on archeospore production of *Pyropia yezoensis* [J]. *Aquaculture*, 2019, 509: 167-170.
- [7] LI X S, SUN X, GAO L, et al. Effects of periodical dehydration on biomass yield and biochemical composition of the edible red alga *Pyropia yezoensis* grown at different salinities [J]. *Algal Research*, 2021, 56: 102315.
- [8] 马家海,张礼明,吉传礼,等. 条斑紫菜冷藏网试验及其产品质量分析[J]. *水产学报*, 1998(S1): 65-71.
- [9] 陈百尧. 条斑紫菜冷藏网技术应用研究[J]. *水产养殖*, 1994(3): 18-20.
- [10] 朱莹,张建恒,华梁,等. 次氯酸钠对扁浒苔叶绿素荧光特性及光合速率的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2014, 23(2): 215-221.
- [11] 张浩. 黄海绿潮爆发机制分析及防治研究[D]. 大连: 大连海事大学, 2013.
- [12] 严兴洪,钟晨辉,亓庆宝,等. 鲜冻与酸处理对坛紫菜和浒苔苗存活的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(5): 697-704.
- [13] LIU X H, HUAN L, GU W H, et al. Acid treatment combined with high light leads to increased removal efficiency of *Ulva prolifera* [J]. *Algal Research*, 2020, 45: 101745.
- [14] 이상용, 황미숙, 유현일, 등. 방사무늬김(*Pyropia yezoensis*) 과 잎파래(*Ulva linza*) 의 유기산활성처리에 대한 최적 pH 와 침지시간 [J]. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2021, 54(3): 293-297.
- [15] 김도희, 김우항, 공용근, 등. 환경친화적인 김 양식장의 산 처리 제 대체물질 개발 [C]//한국어업기술학회 2000 년도 춘계 수산관련학회 공동학술대회발표요지집, [S. l.]: 한국어업기술학회, 2000: 183-184.
- [16] HWANG E K, YOO H C, BAEK J M, et al. Effect of pH and salinity on the removal of phytal animals during summer cultivation of *Sargassum fusiforme* and *Sargassum fulvellum* in Korea [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2015, 27(5): 1985-1989.
- [17] 목종수, 손광태, 이태식, 등. 산 처리에 의한 김(*Pyropia* sp.) 의 유해 중금속(Cd, Cr, Pb) 제거 효과 [J]. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2016, 49(5): 556-563.
- [18] 秋月晃, 久野勝利, 吉田幸史, et al. 再使用酸処理液のアカグサレ菌に及ぼす影響と再利用[J]. *Bulletin of Saga Prefectural Ariake Fisheries Research and Devel-*

- opment Center, 2009, 24: 49-55.
- [19] 三根 崇幸. 海苔スミノリ病の発症要因解析と防除法開発に関する研究[D]. かがしまし; かがしまだいがく, 2010.
- [20] KANG E J, KIM J H. Development of an efficiency criterion for the removal of pest organisms (ulvoid green algae and diatoms) from *Neopyropia* aquaculture using the acid wash (pH shock) method [J]. *Aquaculture*, 2022, 548: 737677.
- [21] KIM G H, MOON K H, KIM J Y, et al. A reevaluation of algal diseases in Korean *Pyropia* (*Porphyra*) sea farms and their economic impact [J]. *Algae*, 2014, 29(4): 249-265.
- [22] WELLBURN A R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1994, 144(3): 307-313.
- [23] 张涛, 沈宗根, 姚春燕, 等. 基于叶绿素荧光技术的紫菜光适应特征研究[J]. *海洋学报(中文版)*, 2011, 33(3): 140-147.
- [24] TIKKANEN M, MEKALA N R, ARO E M. Photosystem II photoinhibition-repair cycle protects Photosystem I from irreversible damage [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1837(1): 210-215.
- [25] XU L L, LIN L D, LUO L, et al. Organic acid treatment for removal of epiphytic *Ulva* L. attached to *Sargassum fusiforme* seedlings [J]. *Aquaculture*, 2022, 547: 737533.
- [26] 李晓蕾, 汪文俊, 梁洲瑞, 等. 野生条斑紫菜 (*Pyropia yezoensis*) 叶状体对于出胁迫的抗氧化生理响应特征 [J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(5): 156-163.
- [27] 杨舒贻, 陈晓阳, 惠文凯, 等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展 [J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2016, 45(5): 481-489.
- [28] 周顺福. 模拟酸雨对4种树种苗木生长及生理的影响 [D]. 南宁: 广西大学, 2015.
- [29] 周顺福, 徐圆圆, 刘世男, 等. 模拟酸雨对桉树苗木生长及生理的影响 [J]. *林业调查规划*, 2017, 42(1): 92-97, 100.
- [30] 梁艳荣, 胡晓红, 张颖力, 等. 植物过氧化物酶生理功能研究进展 [J]. *内蒙古农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 24(2): 110-113.
- [31] 李钦, 郑微云, 王重刚, 等. 有机磷农药对坛紫菜过氧化物酶(POD)活性影响的研究 [J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2003, 42(2): 201-204.
- [32] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9): 405-410.
- [33] 赵天宏, 孙加伟, 付宇. 逆境胁迫下植物活性氧代谢及外源调控机理的研究进展 [J]. *作物杂志*, 2008(3): 10-13.
- [34] 王荣, 刘涛, 周晓君, 等. 条斑紫菜锰超氧化物歧化酶基因克隆与序列分析 [J]. *高技术通讯*, 2006, 16(5): 522-528.
- [35] 冯琛, 路新枝, 于文功. 逆境胁迫对条斑紫菜生理生化指标的影响 [J]. *海洋湖沼通报*, 2004(3): 22-26.

Effects of Acid Treatment on *Neopyropia Yezoensis* and Its Epiphytic *Ulva Linza*

ZHU Pengchang^{1,2}, ZHOU Wei^{2,3}, HU Chuanming^{2**}, LI Shuai⁴, DENG Yinyin²,
TIAN Cuicui²

(1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biotechnology, Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu, 222005, China; 2. Jiangsu Marine Fisheries Research Institute, Nantong, Jiangsu, 226007, China; 3. Protection and Utilization of Agricultural Germplasm Resources in Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu, 210014, China; 4. Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China)

Abstract: Acid treatment is one of the main methods to remove epiphytic green algae during the cultivation of *Neopyropia yezoensis*. Acid treatment time and pH value are important factors affecting the activity of *N.*

yezoensis and green algae. In this study, *N. yezoensis* and its epiphytic *Ulva linza* on a semi-floating raft were used as research objects. The effects of hydrochloric acid seawater solution with different pH values on *N. yezoensis* and *U. linza* were studied under 40 s soaking time. The results showed that the effect of pH value on *U. linza* was greater than that of *N. yezoensis*. The optimum pH value for killing *U. linza* was 1.9 when immersed in hydrochloric acid seawater solution for 40 s. After 7 d of acid treatment, the activities of Superoxide Dismutase (SOD) and Peroxidase (POD), the content of Malondialdehyde (MDA), the maximum photochemical quantum yield (F_v/F_m) and the contents of Chlorophyll *a* (Chl *a*) and Carotenoid (Car) in the pH 1.9 treatment group of *N. yezoensis* were not significantly different from those before acid treatment. However, the activities of SOD and POD and the content of MDA in *U. linza* decreased significantly, the F_v/F_m value decreased to below 0.2, and the contents of Chl *a* and Car decreased to 0. In the pH 1.7 and below treatment group, the above physiological parameters and substance contents of *N. yezoensis* and *U. linza* were significantly lower than the initial values. Based on this and summarizing previous studies, the linear regression equation y (time, s) = 21.69 x (pH) - 1.31 was deduced to kill *U. linza* and maintain the activity of *N. yezoensis* in the range of pH 0.3 - 1.9. Through the study on the physiological and biochemical response of *N. yezoensis* and *U. linza* to acid treatment, it is hoped to improve the understanding of acid treatment technology in laver cultivation, so as to make the progress of domestic laver cultivation technology.

Key words: *Neopyropia yezoensis*; *Ulva linza*; acid treatment; photosystem; antioxidant system

责任编辑:梁 晓



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxxk@gxas.cn

投稿系统网址:<http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>