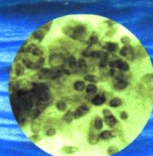
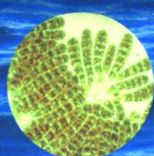
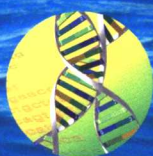


海藻

生物技术 及其应用



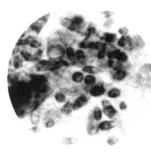
何培民 主编

秦 松 严小军 吴维宁 副主编



化学工业出版社
生物·医药出版分社

海藻 生物技术 及其应用



何培民 主编

秦 松 严小军 吴维宁 副主编



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

海藻生物技术及其应用/何培民主编. —北京: 化学工业出版社, 2006. 10

ISBN 978-7-5025-9422-0

I. 海… II. 何… III. 海藻-生物技术 IV. Q949.2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 126021 号

海藻生物技术及其应用

何培民 主编

秦 松 严小军 吴维宁 副主编

责任编辑: 邵桂林 周 旭

责任校对: 郑 捷

封面设计: 关 飞

*

化学工业出版社 出版发行
生物·医药出版分社

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市万龙印装有限公司装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 17½ 彩插 2 字数 421 千字

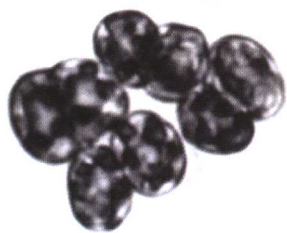
2007 年 1 月第 1 版 2007 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 978-7-5025-9422-0

定 价: 46.00 元

版权所有 违者必究

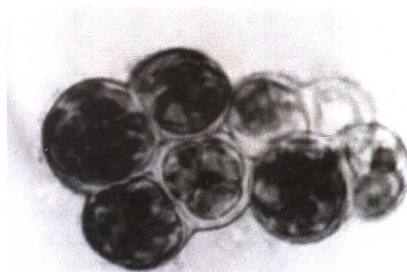
该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换



A

10μm

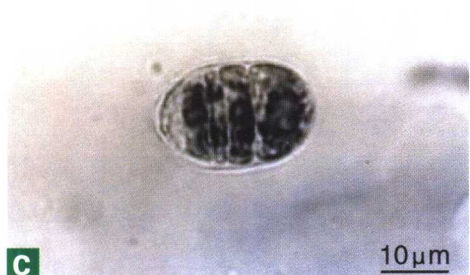
条斑紫菜叶状体酶解刚分离的单细胞



B

10μm

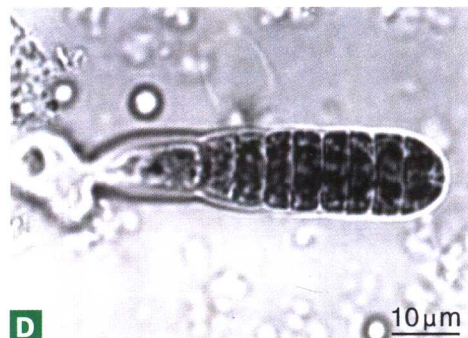
单细胞经2~4d培养后开始分裂



C

10μm

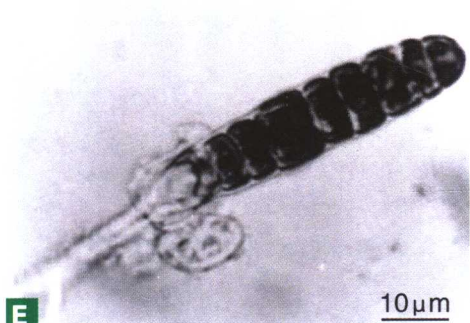
单细胞经离体培养可直接形成正常的单细胞苗



D

10μm

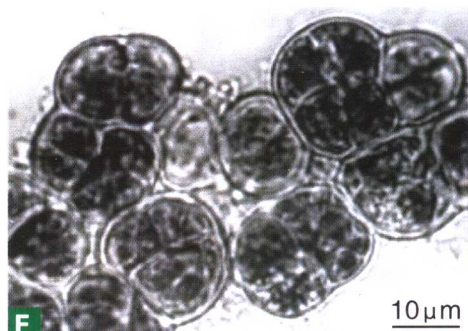
单细胞形成完整的单细胞苗



E

10μm

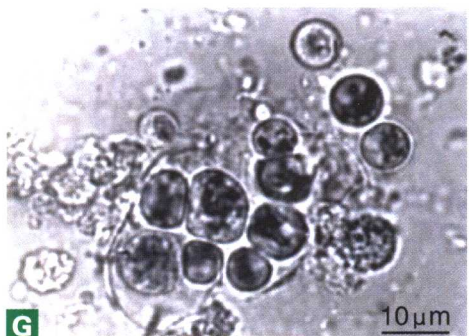
单细胞破壁后形成完整的单细胞苗



F

10μm

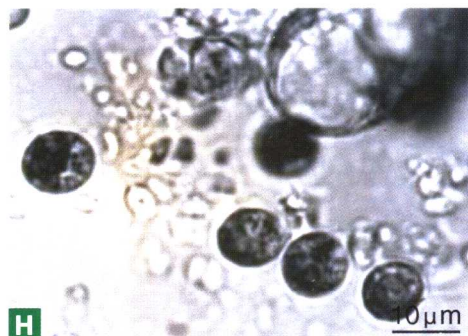
大部分单细胞经离体培养后可形成细胞团



G

10μm

成熟的细胞团正在放散孢子

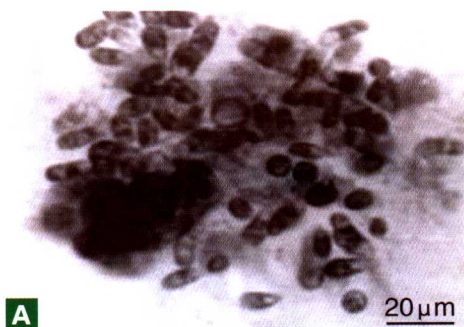


H

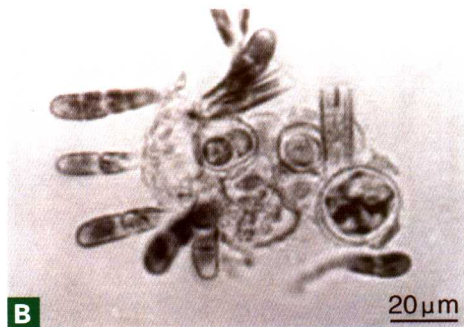
10μm

细胞团释放出来的孢子

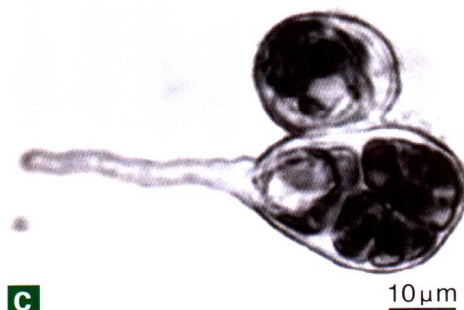
图 I 条斑紫菜叶状体单细胞发育主要途径



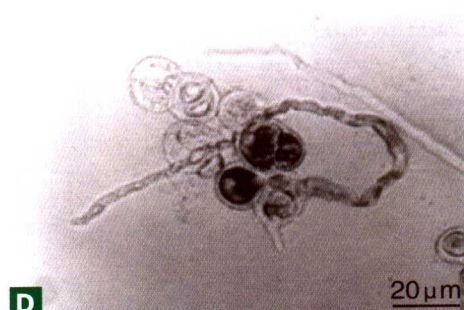
A 单个细胞团释放孢子数量可达50多个



B 释放的孢子可直接萌发形成正常孢子苗



C 部分细胞团可形成带有假根的果孢子囊



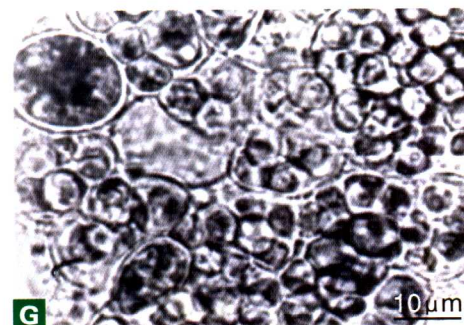
D 果孢子囊释放的果孢子萌发形成丝状体



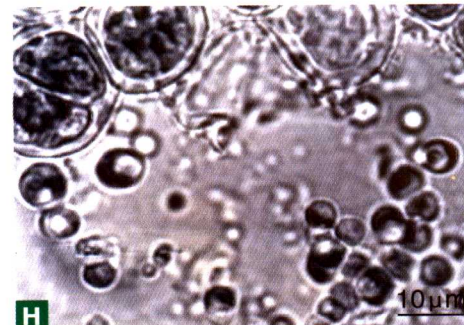
E 部分单细胞可直接形成丝状体



F 在同一个细胞团中形成了3个丝状体和1个叶状体

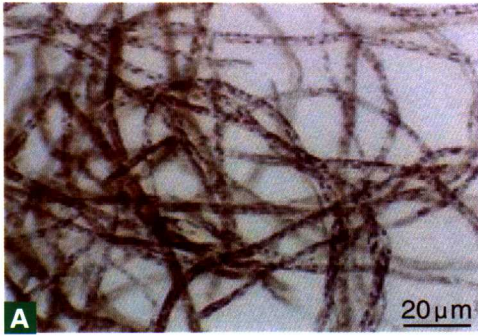


G 部分单细胞直接形成精子囊

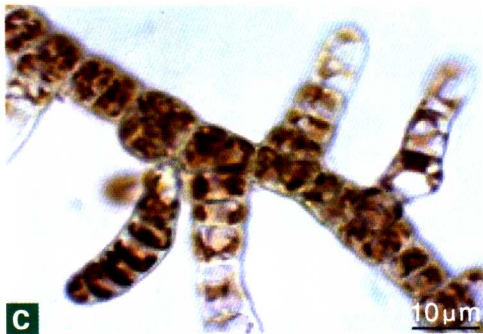


H 精子囊释放精子

图 II 条斑紫菜叶状体单细胞发育主要途径



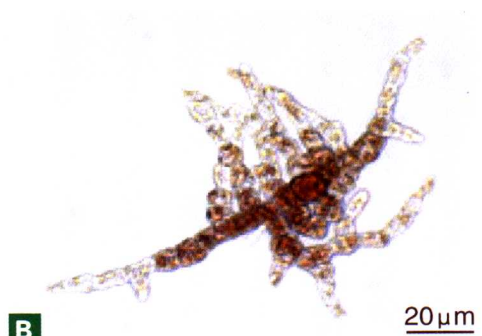
悬浮培养的紫菜 *Porphyra leucosticta* 自由丝状藻丝，藻种由美国藻类学会前主席、Connecticut大学 Charlis Yarish教授提供



成熟的自由壳孢子囊枝可形成新的分枝



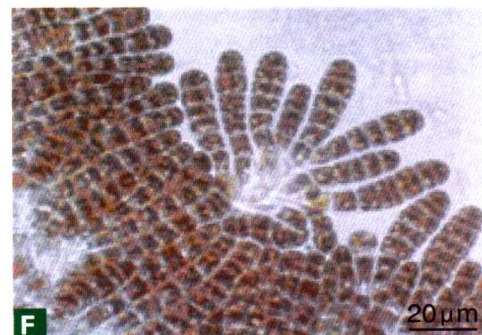
壳孢子囊枝释放出大量壳孢子



自由丝状藻丝经过诱导可100%形成壳孢子囊枝

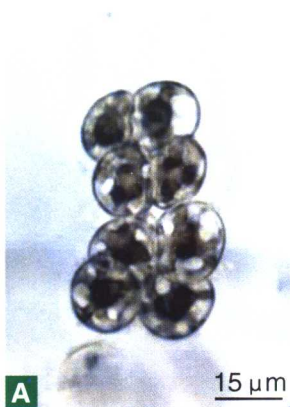


成熟的壳孢子囊枝正在放散壳孢子

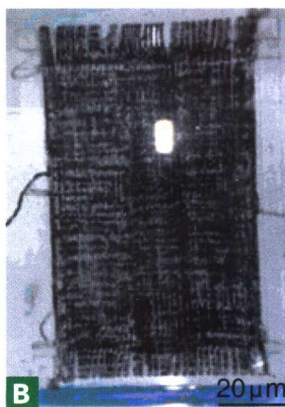


释放后的壳孢子萌发形成叶状体幼苗

图Ⅲ 紫菜 *Porphyra leucosticta* 自由丝状体发育与调控



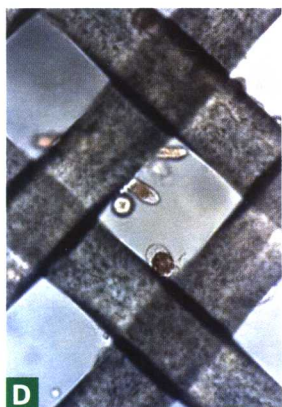
A 应用酶解技术，获得条斑紫菜叶状体大量离体单细胞



B 最早的紫菜细胞育苗方法，将条斑紫菜离体细胞滴撒在苗绳上，再经过30~40d室内培养后，离体单细胞可发育形成叶状体小苗



C 1988年10月上旬，将细胞苗绳放在江苏启东吕泗海区进行栽培，2个月后紫菜叶状体长度可达20cm



D 条斑紫菜的细胞团在一定条件下可以释放孢子，放散的孢子可以附着在尼龙筛绢上，并可萌发形成叶状体小苗，由此创建了紫菜细胞团孢子采苗方法



E 1990年9月中旬，应用细胞固定化技术，直接将条斑紫菜刚酶解分离获得的大量离体单细胞固定在网绳上，并可立即放入海区中进行培育和商业化栽培



F 细胞固定化苗网的幼苗密度可以达到生产要求



G 利用条斑紫菜细胞团释放的大量孢子进行采苗，孢子苗经过海区培养苗密度和产量均可达到生产要求

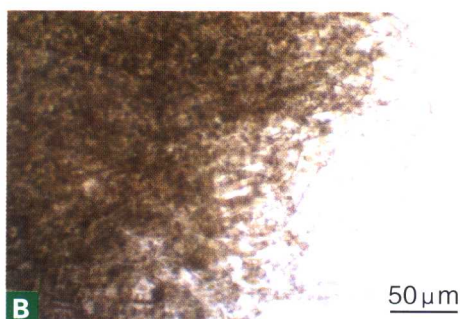


H 细胞固定化采苗密度实验（500万~5000万细胞/网），结果显示密度为3000万~5000万细胞/网的条斑紫菜苗网的苗密度和产量均可达到生产要求

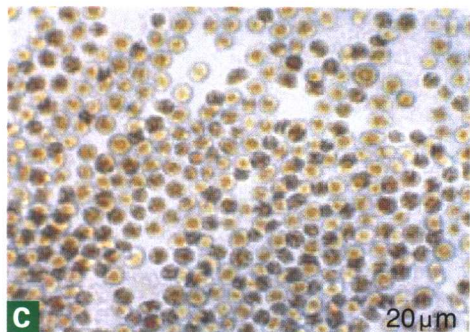
图IV 条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 细胞育苗



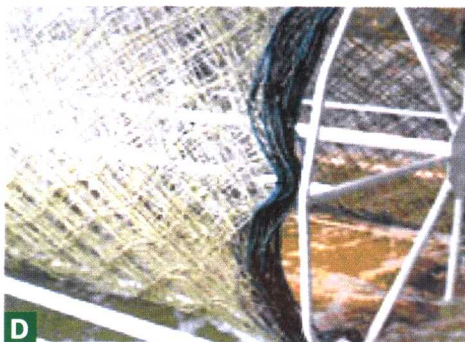
A 紫菜 *Porphyra leucosticta* 自由壳孢子囊枝培养系统



B 应用发育调控技术诱导自由丝状藻丝全部形成壳孢子囊枝



C 应用发育调控技术诱导自由壳孢子囊枝大量放散壳孢子



D 采用轮式采苗系统将刚放散的壳孢子附着在标准网帘 (1.5m × 18m) 上



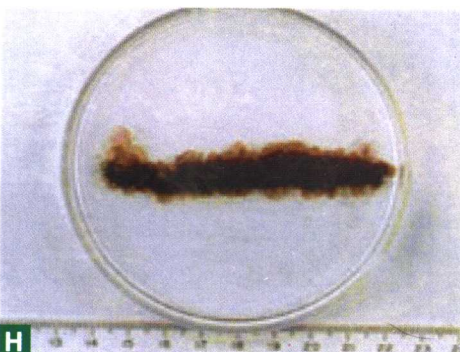
E 采苗后苗网培育于控温控光暂养系统



F 采苗后苗网用游艇运输至海区紫菜栽培场



G 应用IKATA系统上栽培紫菜网苗

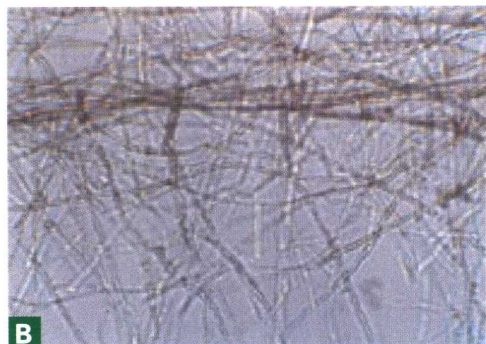
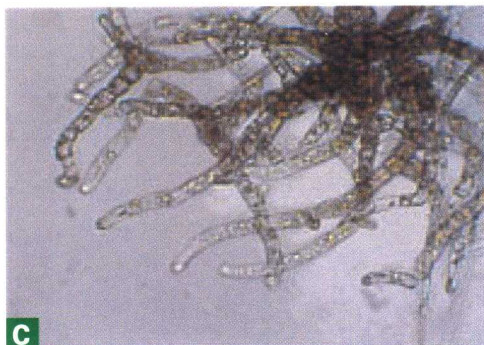


H 海区栽培42d后, 紫菜幼苗可以达到1.2cm

图V 紫菜 *Porphyra leucosticta* 自由壳孢子囊枝育苗

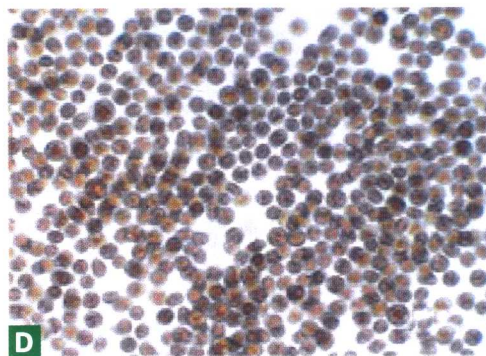


A 应用光生物反应器（20~100L）大规模培养条斑紫菜自由丝状体，可进行控光控温系统调控紫菜自由丝状体发育



B 大规模培养由单克隆形成的条斑紫菜自由丝状藻丝

C 应用发育调控技术诱导自由丝状藻丝全部形成壳孢子囊枝



D 应用发育调控技术诱导自由壳孢子囊枝大量放散壳孢子



E 2005年11月2~10日采用光采苗系统将自由壳孢子囊枝大量放散的壳孢子附着在网帘上，共采苗30张紫菜网帘（网帘规格为2m×2.5m），采苗密度均达到生产要求。11月11日将苗网从上海运输至江苏启东吕泗海区，当天下海挂网栽培



F 经过海区3个月的栽培，紫菜叶状体生长长度为20~30cm，达到了商业紫菜收割标准，收割时间仅比当地紫菜晚收2次，紫菜苗密度和质量均达到当地紫菜上等水平

图VI 条斑紫菜（*Porphyra yezoensis*）自由壳孢子囊枝育苗

《海藻生物技术及其应用》

主编与编写人员

主 编 何培民

副 主 编 秦 松 严小军 吴维宁

编写人员

第一篇 逢少军 徐姗楠 张寒野 蔡春尔 尹顺吉

叶 静 胡晓静 王兰刚 李 祯 吴维宁

何培民

第二篇 姜 鹏 张 薇 梁成伟 李友训 秦 松

第三篇 陈海敏 徐继林 陈 烨 叶芳挺 章 炜

朱 鹏 王广策 严小军

前 言

海藻是海洋的重要生物资源，可为人类提供健康食品和医药、工业原料；海藻又是海洋中的初级生产者，在海洋生态环境中占有重要地位。因此海藻的研究与应用已越来越受到世界海洋生物学家的高度重视。

我国海藻栽培发展的高峰期自 20 世纪 50 年代开始，并一直延续到 70 年代，取得了举世瞩目的成绩，使我国海藻产业从依赖天然资源和进口为主的状况一跃成为世界上最大的海藻生产国，其中以海带和紫菜栽培的迅速发展为标志。目前这两种海藻的栽培区已从北方的辽宁推广到南方的福建，形成了我国三次科技兴海浪潮的第一次浪潮。其中生物技术的突破在这次科技兴海中起了关键性作用，如海带和夏孢子萌发和夏苗培植技术，亚热带气候下的海带养殖技术等，紫菜生活史的阐明和壳孢子技术的突破，海藻筏式、绳式栽培方式及罐式施肥等技术的产业应用。同时，这次浪潮为我国造就了大量的海藻栽培与开发的技术人员队伍，形成了庞大的具有民族特色的海藻栽培产业和海藻化工产业，形成了全国性的产学研相结合的研发队伍，为我国海藻生物技术领域在整体上保持国际先进水平奠定了基础。

我国是世界上海藻栽培大国，产量逐年攀升。据农业部渔业局的年度统计数据显示，2004 年，我国海藻产量已增长至 $1.468 \times 10^6 \text{ t}$ （干重），海藻养殖面积已扩大为 $9.2 \times 10^4 \text{ hm}^2$ ，占海水养殖总产量的 11.1%，已经形成了从海藻育苗、栽培、加工到精加工的产业群，是我国海洋经济的重要支柱产业，产生了显著的生态效益、经济效益和社会效益。随着生物技术和新兴生物产业的发展，海藻生物技术领域的研究已经取得了长足的进展，但是，海藻生物技术研究水平仍然落后于高等植物。基于上述背景，上海水产大学何培民教授与中国科学院海洋研究所秦松研究员、宁波大学严小军教授等联手合作编写了本书，希望通过系统介绍海藻组织培养、海藻细胞工程、海藻基因工程和藻类活性物质与药物筛选等领域的技术原理、研究进展和发展方向，为读者了解和学习海藻生物技术展现比较宽阔的视野，以期为我国海藻生物技术教学和科研及应用尽一点微薄之力。

在编写过程中，我们力求做到能反映本学科的新成就和新进展，但由于水平和篇幅所限，还不能概括所有海藻研究的最新进展，加上时间仓促，书中的错误和不妥之处在所难免，敬请专家和读者批评、指正。

编著者
2006 年 8 月

目 录

第一篇 海藻细胞工程与应用

第一章 海藻组织培养技术	2
第一节 海藻组织培养概况	2
一、海藻组织的概念	2
二、海藻组织培养的重要意义	3
三、海藻组织培养的研究历史	4
第二节 海藻组织培养操作基本步骤	6
一、实验室消毒	6
二、实验器具洗涤与消毒	6
三、培养基配制与消毒	7
四、外植体选择与消毒	10
五、外植体切割与接种	11
六、海藻组织培养方法	12
第三节 海藻切段再生	13
一、海带假根、柄、叶片切段再生	13
二、茎段切段再生	14
三、假根离体培养	15
第四节 海藻愈伤组织培养	16
一、愈伤组织的诱导形成	16
二、愈伤组织的形态发生	17
三、影响愈伤组织生长分化的内外因素	17
四、海藻愈伤组织培养操作	18
五、海藻愈伤组织培养的研究	19
第二章 海藻细胞分离与培养技术	21
第一节 细胞培养概况	21
一、植物细胞培养研究概况	21
二、海藻细胞培养研究的兴起	21
三、细胞培养的应用	22
第二节 单细胞培养	23
一、单细胞分离与制备方法	23
二、单细胞培养方法	24
第三节 细胞悬浮培养	26

一、悬浮培养概况	27
二、悬浮培养中的起始培养	27
三、悬浮培养	27
第四节 生物反应器细胞培养	30
一、生物反应器概述	30
二、主要生物反应器介绍	30
三、生物反应器的选择	32
第三章 海藻原生质体分离与培养技术	34
第一节 原生质体研究概述	34
一、原生质体特征	34
二、原生质体研究进展	34
第二节 原生质体分离	36
一、酶的种类	36
二、酶液配制	36
三、影响原生质体分离的因素	38
第三节 原生质体收集及纯化	38
一、过滤-离心法	39
二、漂浮法	39
三、梯度离心法	39
四、界面法	39
第四节 原生质体鉴定	39
一、低渗刺激法	39
二、荧光染色法	39
三、胞质环流法	40
四、氧电极法	40
第五节 原生质体培养	40
一、原生质体培养方式	40
二、影响原生质体培养的主要因素	40
第六节 原生质体再生	41
一、细胞壁再生	41
二、细胞分裂	42
三、再生植株	42
第七节 鹧鸪菜原生质体培养及成株	42
一、材料准备	42
二、酶解	43
三、原生质体释放及鉴定	43
四、原生质体培养	43
第八节 羊栖菜原生质体培养	43
一、材料准备	43

二、酶解	44
三、原生质体收集	44
四、原生质体检查	44
五、原生质体培养	44
第九节 礁膜原生质体培养	45
一、材料准备	45
二、酶液配制	45
三、原生质体分离	45
四、原生质体培养	45
第四章 海藻细胞融合技术	46
第一节 细胞融合概况	46
一、细胞融合的概念	46
二、细胞融合的发展史	46
三、细胞融合的意义	48
第二节 海藻细胞融合技术	48
一、原生质体制备	48
二、细胞融合诱导	48
三、杂种细胞筛选	50
四、杂种细胞鉴定	51
第三节 海藻细胞融合影响因素	53
一、原生质体制备	53
二、原生质体融合	53
三、杂种细胞筛选和鉴定	54
第四节 藻类细胞融合实例	54
一、种间杂交	54
二、科间杂交	54
三、门间杂交	54
四、界间杂交	54
第五章 海藻细胞突变	55
第一节 细胞突变研究概况	55
一、细胞突变的概念	55
二、细胞突变的研究意义	55
三、细胞突变的研究进展	56
第二节 细胞诱变	59
一、细胞诱变的一般程序	59
二、诱变材料	59
三、诱变方法	59
第三节 突变体筛选	61
一、直接筛选法	61

二、间接筛选法	62
三、逐一鉴定法	62
第四节 藻类细胞突变研究实例	62
一、抗 NaCl 突变体	62
二、色素突变体	62
三、营养丰富型突变体	63
四、光合作用突变体	63
五、氮代谢突变体	63
第五节 细胞突变研究和应用问题	63
一、材料培养和生长问题	63
二、突变在植株水平上表达的问题	63
三、突变体不良效应问题	64
四、突变体鉴定问题	64
第六章 海藻种质保存技术	65
第一节 海藻种质保存概况	65
一、海藻种质保存概念	65
二、海藻种质保存的重要意义	65
三、海藻种质保存研究概况	66
第二节 海藻种质保存方法	67
一、切段培养保存	68
二、弱光低温培养保存	68
三、继代培养保存	68
四、固定化培养保存	68
五、低温冷藏保存	69
六、低温潮湿冷藏保存	69
七、超低温保存	69
第三节 藻类超低温保存	70
一、超低温保存的基本概念	70
二、超低温保存操作模式	70
三、海藻种质超低温保存过程	70
第四节 海藻种质保存实例	73
一、微藻固定化保存	73
二、红藻孢子超低温保存	73
三、小球藻玻璃化超低温保存	74
四、牟氏角刺藻包埋(胶囊化)-脱水法冷冻保存	75
第七章 海藻细胞分化发育与再生	76
第一节 海藻细胞分化发育概述	76
第二节 各种海藻细胞分化发育	77
一、条斑紫菜细胞分化发育	77

二、坛紫菜细胞分化发育	80
三、鹧鸪菜细胞分化发育	80
四、角叉菜细胞分化发育	81
五、江蓠细胞分化发育	81
六、海带细胞分化发育	81
七、裙带菜细胞分化发育	82
八、石莼细胞分化发育	82
九、礁膜细胞分化发育	83
十、浒苔细胞分化发育	84
第八章 海藻育种技术	86
第一节 海藻育种概况	86
第二节 传统育种技术	86
一、选择育种	86
二、杂交育种	88
三、海藻传统育种研究	89
第三节 现代生物技术育种	91
一、细胞杂交育种	91
二、突变育种	92
三、多倍体育种	93
四、分子育种	94
第四节 海藻育种技术发展概述	98
第九章 海藻生物育苗技术	99
第一节 紫菜育苗技术	99
一、紫菜的生活史	99
二、我国紫菜育苗技术的发展	99
三、贝壳丝状体育苗技术	100
四、自由丝状体接种育苗技术	102
五、叶状体细胞育苗技术	103
六、自由丝状体无贝壳育苗	104
七、单孢子细胞采苗技术	105
第二节 海带育苗技术	106
一、海带低温度夏育苗技术	106
二、海带配子体克隆育苗技术	107
三、海带孢子悬浮培养与固相化采苗试验	109
四、海带愈伤组织育苗研究	110
第三节 裙带菜育苗技术	110
一、半人工海上育苗技术	111
二、全人工育苗技术	111
三、裙带菜配子体克隆育苗技术	111

第四节 羊栖菜育苗技术.....	113
一、羊栖菜的生活史.....	114
二、羊栖菜假根育苗技术.....	115
三、羊栖菜受精卵育苗技术.....	116
参考文献	118

第二篇 藻类基因工程

第十章 藻类基因工程概况	133
第一节 藻类基因工程基本概念.....	133
一、藻类的多样性、广布性与特殊性.....	133
二、藻类基因工程研究概况.....	134
第二节 用于基因工程研究的藻类.....	134
一、微藻.....	134
二、大型藻.....	144
第十一章 藻类基因工程常用遗传转化方法和基因	149
第一节 藻类基因工程常用遗传转化方法.....	149
一、接合转移.....	149
二、天然转化与诱导转化.....	149
三、电击法.....	149
四、基因枪法.....	150
五、玻璃珠法.....	151
六、碳硅钎丝穿刺法.....	151
七、聚乙二醇法.....	151
八、人工转座子法.....	152
九、显微注射法.....	152
十、病毒介导转化法.....	152
第二节 用于藻类基因工程的基因.....	152
一、报告基因.....	152
二、选择标记基因.....	154
三、目的基因.....	155
第十二章 藻类基因工程研究系统与应用系统.....	156
第一节 藻类基因工程研究系统.....	156
一、转化方法.....	156
二、载体元件.....	156
三、植株再生方式.....	157
四、筛选方法.....	159
五、基因整合及表达的检测方法.....	159
六、藻类研究系统的问题与不足.....	159
第二节 藻类基因工程应用系统.....	160