

文章编号:1000-0615(2007)01-097-08

坛紫菜品系间杂交藻体选育及经济性状的初步研究

陈昌生, 徐燕, 纪德华, 谢潮添, 王玉中, 王凤霞, 柳佩娟

(集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

摘要:为了获得杂交的坛紫菜优良品系,本实验对野生型坛紫菜(♀)和经过人工诱变选育获得的红色型(♂)的坛紫菜进行杂交获得丝状体;丝状体促熟培养后获得杂交子一代叶状体,从子一代中挑选出5种具有一定生长优势和其它经济性状的藻体(品系A、B、C、D、E);对其分别进行体细胞克隆和丝状体培育,获得大量子一代和子二代。对子一代和子二代进行生长性状测定和选育,并进行抗逆性和藻胆蛋白及叶绿素的测定。初步筛选出生长性状好、品质优的子二代4个品系B₂、C₂、D₂、E₂,而且4个品系的藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白和叶绿素含量也明显高于对照组,其中D₂的R-RPE含量高达61.71%,最低的品系E₂为44.64%,比对照组高一倍以上;在31℃下培养,品系C₂第5天叶片中部才开始出现个别针尖般烂点,藻体基部正常,表现出一定的耐高温特性。品系B₂具显著的生长优势和抗高温特性,品系D₂、E₂具有一定抗低氮、磷的特性,其中E₂在低氮磷培养1~3d,瞬时增重率为25.2%,平均日增长量为1.20 cm·d⁻¹,在4~6d瞬时增重率和日增长量分别接近30.0%和2.0 cm·d⁻¹;通过坛紫菜不同品系的杂交、单细胞克隆和丝状体细胞育苗技术相结合可以有效的对坛紫菜杂交藻体的优良性状进行筛选,逐步达到选择育种的目的。

关键词:坛紫菜;杂交育种;酶解;丝状体;抗逆性;优势

中图分类号:S 917.3; S 968.43⁺¹

文献标识码:A

A preliminary study on cultivation of the crossbred *Porphyra haitanensis* thallus and their economic characteristics

CHEN Chang-sheng, XU Yan, JI De-hua, XIE Chao-tian,

WANG Yu-zhong, WANG Feng-xia, LIU Pei-juan

(Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: In order to obtain fine crossbreeding strains of *Porphyra haitanensis*, the wild strain (♀) was crossbred with the red strain (♂) of *P. haitanensis* selected through induction of mutation, to get free-living conchocelis. The free-living conchocelis was prematurely cultivated to obtain the filial generation (F₁) thallus. Of all the F₁, five healthy strains (A, B, C, D, E) have predominance of growth and other economic characteristics were selected. Through somacloning and culturing, they generated mass F₁ and F₂. The growth characters of F₁ and F₂, stress tolerance, chromoprotein and chlorophyll contents of F₂ were measured. On the basis of the results, four strains (B₂, C₂, D₂, E₂) of F₂ were first selected, which possessed great predominance of growth and abundant chromoprotein and chlorophyll. In addition, R-RPE,

收稿日期:2006-07-07

资助项目:国家自然科学基金资助项目(40676077);福建省科技重大专项资助项目(2004NZ03);厦门市科技局资助项目(3502Z20041051)

作者简介:陈昌生(1957-),男,福建平潭人,教授,主要从事水产增殖与育种技术的研究。E-mail: cschen@jmu.edu.cn

R-PC, APC and Chl. a of the four strains were also evidently higher than the control group. Among them, R-RPE content of D₂ reached up to 61.71%, while the lowest group E₂ reached up to 44.64%, more than twice than that of the control group; at 31 °C, the central part of 5 d thallus appeared a few pinpoint-like rotted points, whereas the base part of thallus appeared normal, indicating high temperature resistance. Strain B₂ showed evident predominance of growth and high temperature resistance, while D₂ and E₂ showed a certain low nitrogen and phosphorus resistance. Cultured in low nitrogen and phosphorus for 1–3 days, the instantaneous growth rate of E₂ was 25.5%, average daily growth 1.20 cm · d⁻¹, while during 4–6 d, the instantaneous growth rate was about 30.0%, average daily growth 2.0 cm · d⁻¹. Therefore, fine crossbreeding *P. haitanensis* strains can be effectively obtained by conjoining the technology of crossbreeding of different strains, single cell cloning and free-living conchocelis breeding.

Key words: *Porphyra haitanensis*; crossbreeding; enzymolysis; free-living conchocelis; stress tolerance; predominance

坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)系暖温性经济海藻,是我国东南沿海特有的养殖品种。近几年,虽然养殖面积增长较快,但育种研究滞后,加上群众养殖时种菜选择不当,连续多年自养自留自用,近亲繁殖,导致品种退化、耐高温能力减弱,原藻的产量和质量下降,病害频繁发生,影响坛紫菜养殖业的健康和持续发展。

对于紫菜栽培业来说,良种培育历来都是生产者十分关注的问题,也是许多藻类学者多年来努力研究的方向。条斑紫菜育种工作起步早,且比较成熟,目前已经培养和选育了相当数量的新品系,其中有的已经应用于生产,但坛紫菜作为我国特有的南方养殖品种,其新品种选育与杂交育种研究起步晚、进展慢^[1-5],迄今为止,尚未见到有关坛紫菜品系间杂交育种成功的报道。本实验通过对坛紫菜野生选育型和人工诱变选育的红色型坛紫菜进行杂交,然后对其子一代(F₁)和子二代(F₂)的经济性状和抗逆性进行筛选,初步培育出了生长速度较快,品质良好,对逆境(高温和低氮磷)适应性较强的品系,为今后坛紫菜的杂交育种研究奠定了基础。

1 材料与方 法

1.1 材料的来源

取自集美大学坛紫菜种质改良与应用实验室的野生型坛紫菜(♀)和经过人工诱变选育的红色型坛紫菜(♂),进行杂交获得丝状体(单独培养的父本和母本没有获得丝状体),丝状体促熟培养后获得杂交 F₁ 叶状体,经过大量筛选和单株充气培养,然后从 F₁ 中挑选出 5 株具有一定生长

优势和抗逆性状(抗高温、抗低氮磷等)的藻体,分别暂名为品系 A₁、B₁、C₁、D₁、E₁;接着进行体细胞酶解和单细胞克隆培养获得具有相同性状的大量藻体,再从这 5 种 F₁ 群体中挑选出优势株进行丝状体培养和壳孢子促放,获得 F₂ 藻体,暂名为品系 A₂、B₂、C₂、D₂、E₂,然后分别进行筛选和培育实验,以野生的坛紫菜作为对照组。

1.2 生长性状测定

生长的测定 从 F₁ 和 F₂ 中各随机挑选出 30~40 株、3~5 cm 健康完整的藻体进行单株充气培养,并设置平行组。培养条件为:温度 20~21 °C,光照 2 000 lx,光周期 12 D:12 L,每隔 5 天进行一次长度、宽度和鲜重测定。

测定公式

平均日增长量: $E(\text{cm} \cdot \text{d}^{-1}) = (E_t - E_0) / t$

平均日增重率: $W_r(\%) = [(W_t / W_0)^{1/t} - 1] \times 100$

瞬时增重率: $Gr(\%) = [(\ln W_t - \ln W_0) / t] \times 100$

E_t : 为培养 t d 后的藻体长度; E_0 : 为藻体的初始长度; W_t : 为培养 t d 后的藻体鲜重; W_0 : 为藻体的初始鲜重; t : 为两次测量的时间间隔。

1.3 抗逆性状测定

耐高温培养实验 利用 6 个恒温光照培养箱,每个培养箱的温度单独设置为 31、30、29、28、27、26 °C。然后,对 F₁、F₂ 和对照组的藻体静水培养 15 d,每隔 5 天对其进行生长性状测定和腐烂程度观察。上述各实验进行了重复,下同。

低 N、P 培养液的制备及实验藻体的培育 低 N、P 培养液的制备与测定方法见参考文献[6]。在温度、光强、光周期、充气条件不变的情况下,挑选实验藻体置于低氮磷的培养液中进行

充气培养,直至藻体完全变黄并出现腐烂迹象,记录培养天数,然后更换含有 N、P 的正常培养液进行恢复培养。每天观察,每隔 3 天测量长、宽、重,其它培养条件和测定方法同上。

1.4 生化指标测定

叶绿素的测定 叶绿素测定按 Jensen^[7]方法进行。

总藻胆蛋白的测定与计算 称取冷冻的藻体 2~3 g,用蒸馏水快速洗涤 3 次,平铺在干净的 3 层纱布上,在风扇前吹干,40~60 min,置于粉碎机中,间歇粉碎至粉末状。每个品系精确称取 2 份,一份 0.010 g,另一份 0.030 g,每份相差不超过 0.000 2 g。放在研磨器中,加磷酸钠缓冲液进行研磨至液体中无碎末后定容到 20 mL,放入 -20 °C 冰箱中,反复冻融 6 次以上,融化过程中搅拌使其混合均匀,最后一次冻融结束后,再用 300 目筛绢网过滤,滤液在转速 10 000 ×g,4 °C 条件下离心 20 min,取上清液,定容至 50 mL,振荡后静置,分别于 565、615、650 nm 波长下测定其吸光值,计算公式如下:

$$C_{RPE} = 0.123 A_{565} - 0.068 A_{615} + 0.015 A_{650}$$

$$C_{RPC} = 0.162 A_{615} - 0.001 A_{565} - 0.098 A_{650}$$

$$C_{APC} = 0.171 A_{650} - 0.000 6 A_{565} - 0.004 A_{615}$$

其中, C_{RPE} 、 C_{RPC} 、 C_{APC} 分别为 R-藻红蛋白、R-藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白的含量。

2 结果

2.1 各品系的形态特征及其在适宜条件下的生长发育状况

亲本及各品系的形态特征 母本采自平潭自然海区,经过人工选育的野生坛紫菜,叶片披针型,长度为 20~90 cm,宽度为 0.7~1.6 cm,厚度为 45~67 μm,长宽比的平均值为 45:1;藻体基部为褐绿色,中上部褐色带紫,叶片基部锯齿较多,中上部渐少。父本为人工诱变选育获得。藻体呈披针形,整株棕红色,叶片长度为 140~220 cm,长的可达 300 cm,宽度为 1.8~3.0 cm,长宽比为(58~65):1,厚度为 28~35 μm;基部呈脐形;藻体边缘没有锯齿;叶片较难成熟,雄性个体多。

选育的各杂交品系的主要形态特征见表 1。

表 1 F_1 和 F_2 叶状体的形态特征
Tab.1 The conformational character of F_1 and F_2

品系 strain	藻体形状 shape	颜色 colour	长度(cm) length	宽度(cm) width	平均长宽比 rate of length and width	厚度(μm) thickness	锯齿数量、大小 quantity and size of sawtooth
A	A ₁ 长卵型 long olivary	红褐色 henna	68~93	3.0~4.0	24:1	26~31	无 none
	A ₂ 长卵型 long olivary	红褐色 henna	78~141	4.0~5.0	22:1	26~32	无 none
B	B ₁ 披针型 lanceolate	褐绿色 taupe	60~95	0.9~1.5	72:1	30~34	较多,很小 many, wee
	B ₂ 披针型 lanceolate	茶褐色 tea brown	73~132	1.2~1.8	83:1	29~34	较多,很小 many, wee
C	C ₁ 长卵型 long olivary	红褐色 henna	53~65	3.0~4.0	15:1	28~35	无 none
	C ₂ 长卵型 long olivary	褐色 brown	90~102	3.5~4.8	21:1	30~35	无 none
D	D ₁ 披针型 lanceolate	红褐色 henna	90~116	0.7~1.2	90:1	45~57	较多,较大 many, biggish
	D ₂ 亚披针型 sublanceolate	红褐色 henna	82~110	1.6~2.0	40:1	46~55	较多,较大 many, biggish
E	E ₁ 披针型 lanceolate	深褐色 dark puce	70~150	1.2~1.8	71:1	41~45	较多,较大 many, biggish
	E ₂ 亚披针型 sublanceolate	茶褐色 tea brown	60~87	1.6~2.1	38:1	39~42	较多,很小 many, wee

杂交新品系生长性状的比较 从表 2 可见, F_1 和 F_2 平均日增长量呈上升趋势,在 1~20 天的培养时间内,第 16~20 天的日平均生长量最大,尤其是品系 B₂ 平均日增长量高达 5.68 cm · d⁻¹,其次是品系 D₁ 和 A₂ 平均日增长量分别达到 5.63 cm · d⁻¹ 和 4.50 cm · d⁻¹。经选育后,品系 B₂ 和 C₂ 相对 B₁ 和 C₁ 平均日增长量均有所增加,而对照组生长非常缓慢,6~10 d 时最大日均增长量为 1.45 cm · d⁻¹,并在培养 10 d 后藻体就

开始腐烂,无法测量。从表 3 可见,各杂交品系的 F_1 和 F_2 平均日增重率明显高于对照组。

2.2 杂交各品系的抗逆性比较

耐高温能力的比较 F_2 在 26、27 °C 生长正常。对照组在 26 °C 下第 4 天就开始出现腐烂的痕迹。在 29、30、31 °C 的高温下,各品系藻体开始出现针尖般烂点的时间如表 4 所示。在 31 °C 情况下,品系 C₂ 第 5 天叶片中部才开始出现个别针尖般烂点,藻体基部正常,表现出一定的耐高温

特性。

表 2 适宜条件下两代叶状体的平均日增长量

Tab. 2 Average daily length-increased of two generations' thallus in optimal conditions

品系 strains	培养时间(d) cultivate time			
	1~5	6~10	11~15	16~20
A	A ₁ 1.92±0.43	4.06±0.57	4.92±0.74	
	A ₂ 1.71±0.54	3.33±0.71	4.33±0.77	4.50±0.84
B	B ₁ 1.77±0.46	3.18±0.85	3.70±0.99	
	B ₂ 2.15±0.59	4.35±0.72	5.08±0.94	5.68±0.96
C	C ₁ 1.33±0.44	2.71±0.63	3.33±0.67	3.71±1.76
	C ₂ 2.10±0.32	2.97±0.52	3.74±0.66	4.05±1.52
D	D ₁ 2.03±0.22	3.70±0.33	5.06±0.46	5.63±1.07
	D ₂ 1.71±0.42	3.02±0.67	3.74±0.85	3.84±0.90
E	E ₁ 1.99±0.43	3.27±0.69	4.62±0.72	
	E ₂ 1.43±0.23	2.81±0.32	3.55±0.39	4.13±0.55
对照 control	1.36±0.20	1.45±0.35		

注:空白处为藻体绿烂,无法测量,下同

Notes: The blanks means that the thallus have rotted and cann't be measured

表 3 适宜条件下不同品系叶状体的平均日增重率

Tab. 3 Average daily weight-increased rate of two generations' thallus in optimal conditions %

品系 strains	培养时间(d) cultivate time			
	1~5	6~10	11~15	16~20
A	A ₁ 44.70±8.74	41.79±4.62	35.65±3.36	
	A ₂ 49.59±5.35	44.21±3.24	37.15±1.84	31.69±1.50
B	B ₁ 37.41±12.29	37.05±4.90	31.76±2.87	
	B ₂ 41.14±3.93	40.03±2.17	33.32±2.01	32.65±1.82
C	C ₁ 36.43±6.30	37.35±3.89	32.32±2.93	30.03±1.46
	C ₂ 46.09±5.58	38.30±2.11	32.89±1.43	32.27±1.41
D	D ₁ 45.40±5.27	39.19±3.78	33.99±2.62	29.16±2.06
	D ₂ 39.11±4.89	37.20±4.06	31.49±2.68	26.74±1.85
E	E ₁ 36.18±7.22	35.65±3.10	33.67±1.88	
	E ₂ 32.58±5.29	32.99±2.77	28.66±1.94	25.49±1.72
对照 control	23.95±5.76	20.58±1.68		

表 4 不同品系在高温下叶片开始出现烂点的时间

Tab. 4 Time of the different strains beginning to rot in different high temperature

温度(℃) temperature	品系 strain					对照 control
	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂	
26	-	-	-	10	-	4
27	12	13	-	9	11	3
28	8	6	8	3	5	2
29	5	3	9	2	2	1
30	5	4	6	2	4	1
31	3	3	5	2	2	1

注:“-”表示没有腐烂

Notes:“-”means did not rot

从图 1~图 6 可以看出,各杂交品系在 26~27℃下,叶片长度增长较快;在高温下,F₂ 平均日增长量均在 0.50 cm·d⁻¹ 以下(静置培养结果,下同),随着温度的升高,各品系的平均日增长量呈下降趋势。但 C₂ 在 30℃下,藻体长度日增长仍然较快(图 3),表现出耐高温的特性。对照组在 30℃时叶片腐烂严重,长度增长呈负值(图 6)。

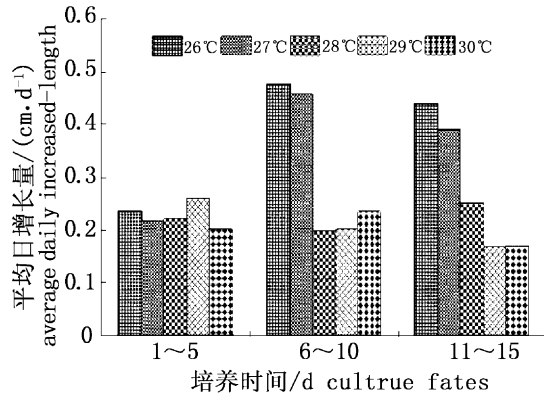


图 1 不同高温下品系 A₂ 平均日增长量

Fig. 1 The average daily increased-length of A₂ in different high temperature

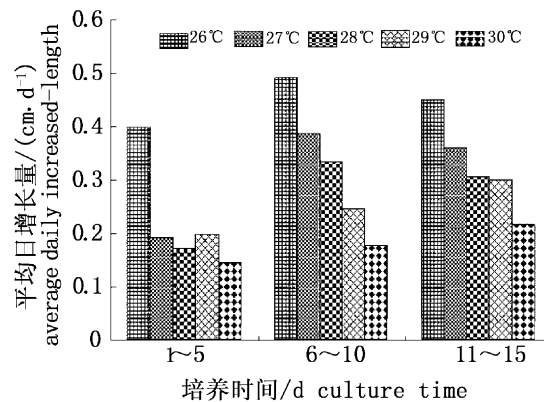


图 2 不同高温下品系 B₂ 平均日增长量

Fig. 2 The average daily increased-length of B₂ in different high temperature

耐低氮、磷能力的比较 经检测,人工制作的低氮、磷海水中的氮为(2.0±0.12) μg·L⁻¹,是自然海区氮含量的 1/50~1/100;磷为(2.5±0.26) μg·L⁻¹,是自然海区磷含量的 1/15~1/20。F₂ 和对照组在低氮、磷的条件下培养,藻体开始变黄时间为 7~12 d 内(表 5)。培养 1~3 d,各品系藻体的平均日增长量和瞬时增重率分别

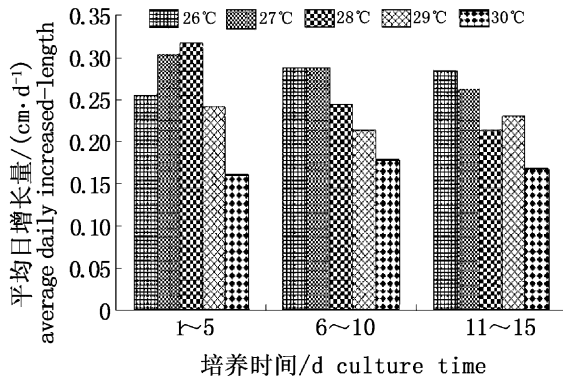


图3 不同高温下品系 C₂ 平均日增长量

Fig. 3 The average daily increased-length of C₂ in different high temperature

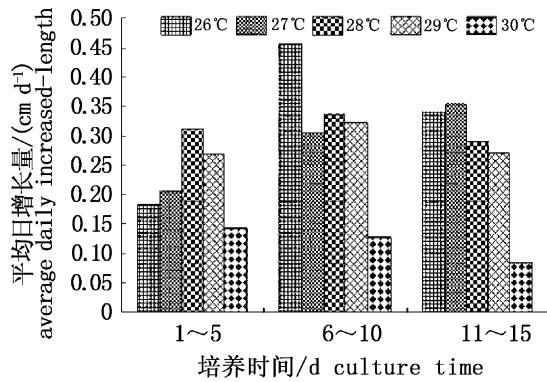


图4 不同高温下品系 D₂ 平均日增长量

Fig. 4 The average daily increased-length of D₂ in different high temperature

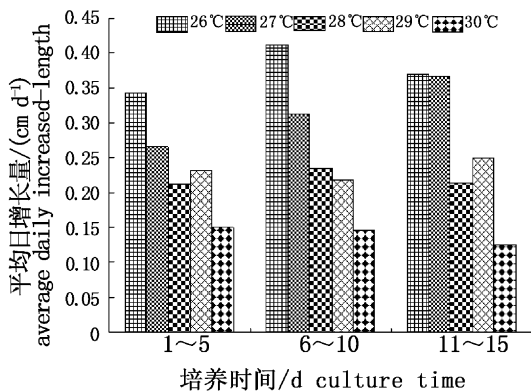


图5 不同高温下品系 E₂ 平均日增长量

Fig. 5 The average daily increased-length of E₂ in different high temperature

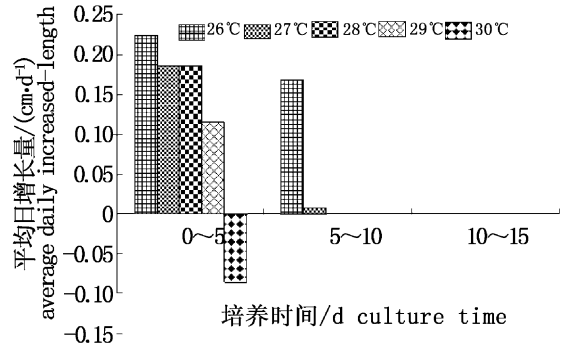


图6 不同高温下对照组平均日增长量

Fig. 6 The average daily increased-length of the comparison in different high temperature

表5 不同品系在低氮磷情况下藻体色泽开始变黄的时间

Tab.5 Time of the different strains beginning to turn into kelly in low nitrogen and phosphorus

品系 strain	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂	对照组 control
培养天数/d cultivate time	9	9	9	12	12	6

在 $0.85 \sim 1.80 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $25.22\% \sim 37.91\%$ 之间;随着培养时间的延长,瞬时增重率明显呈下降趋势,其中下降幅度最大的为 A₂,第1天为 37%,第9天瞬时增重率不足 9%,同时平均日增长量由 1~3 d 的 $1.20 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$,到第9天降为 $0.54 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ (图7)。较特别的是 E₂ 在 1~3 d 瞬时增重率为 25.2%,平均日增长量为 $1.20 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$,培养 4~6 d 时的瞬时增重率和日增长量分别接近 30.0% 和 $2.0 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$,以后生长才慢慢下降,表现出耐低氮磷的特性,经重复实验,结果相同。

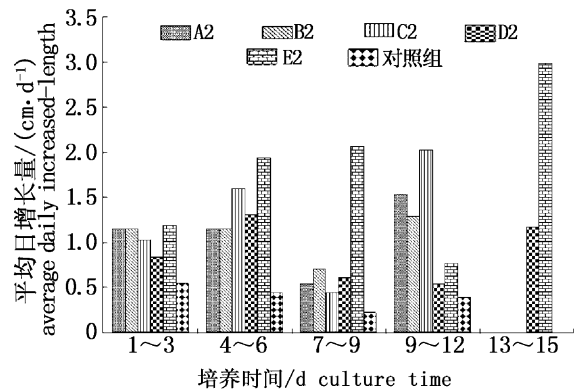


图7 不同品系叶状体在低氮磷情况下的平均日增长量

Fig. 7 The average daily increased-length of different lines of thallus in low nitrogen and phosphorus condition

2.3 杂交各品系的品质比较

各品系的藻胆蛋白和叶绿素的含量测定结果如表 6 所示。 F_2 在 R-RPE 具有显著性的优势, D_2 的 R-RPE 含量高达 61.71%, B_2 为 44.64%,比对照组高一倍以上。 A_2 的 R-RPC、APC 和 Chl. *a* 的含量低于对照组。

3 讨论

3.1 F_1 和 F_2 的生长性状分析

对 F_1 和 F_2 在培养 10 d 时的长度和重量进行

双样本 *t* 检验(表 7),可以看出品系 B、C、D、E 的 F_1 和 F_2 ,在长度和重量上均存在差异,尤其品系 B 的长度和重量增长差异极显著;由表 2 和表 3 可知, B_2 的平均日增长量和日增重率上都明显高于 B_1 ,在生长性状方面有优势。品系 C 两代之间的生长差异不大,属于正常的遗传,而且两代都有较高的平均日增长量和日增重率(表 2 和表 3),藻体厚度也明显比对照组薄;总体来看, F_2 较 F_1 在生长性状上变异幅度降低^[8],遗传上具有一定的稳定性。

表 6 F_2 叶片中藻胆蛋白和叶绿素的含量
Tab. 6 Contents of phycobiliprotein and chlorophyll of F_2 thallus

品系 strain	R-RPE \pm SD	R-RPC \pm SD	APC \pm SD	Chl. <i>a</i> \pm SD	Phyco. \pm SD
A_2	38.17 \pm 0.091 **	11.82 \pm 0.020 **	9.28 \pm 0.067	5.30 \pm 0.030	72.53 \pm 0.153 **
B_2	44.64 \pm 0.025 **	22.75 \pm 0.031 *	13.59 \pm 0.082 *	7.10 \pm 0.043 *	81.00 \pm 0.036 **
C_2	52.01 \pm 0.119 **	15.47 \pm 0.606	11.21 \pm 0.017	6.43 \pm 0.065 *	78.60 \pm 0.672 **
D_2	61.71 \pm 0.098 **	24.51 \pm 0.080 *	16.47 \pm 0.047 **	5.93 \pm 0.022	102.69 \pm 0.221 **
E_2	46.64 \pm 0.009 **	24.36 \pm 0.022 *	14.24 \pm 0.041 *	6.44 \pm 0.073	85.246 \pm 0.030 **
对照组 control	21.36 \pm 0.465	18.02 \pm 0.872	10.67 \pm 0.216	5.35 \pm 0.076	50.04 \pm 1.543

注: * 示差异显著; ** 示差异极显著

Notes: * The mean difference is significant at the 0.05 level; ** The mean difference is significant at the 0.01 level

3.2 杂交品系的抗逆性分析

C_2 和 B_2 在抗逆性(抗高温和低氮磷)方面具有一定的优势,在 30 °C 和 31 °C 下培养 3~6 d 以上,藻体开始腐烂,说明藻体对 30 °C 以上的高温较敏感。品系 A_2 在 26 °C、27 °C 下生长量与其它温度存在显著差异,所以对于 A_2 ,28 °C 就是其生长临界温度,这一点在图 1 中得到验证。在适当的高温中,蛋白质分子一些亲水键断裂,会重新形成较强的硫氢键,使整个分子重新恢复其空间结构,其热稳定性更大,耐热性增强^[9]。氮、磷含量是养殖海藻中继阳光和碳源后最重要的营养元素之一。一般紫菜在氮磷摩尔比为 13~15 时达到最佳生长^[10],缺磷植株生长缓慢,叶片发绿,缺氮植株瘦小,颜色较淡^[11]。厦门周边海域的正常氮、磷含量分别为 200~300 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 37.5~46.4 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由图 7 可见,低氮绿下叶片色泽变浅的时间与低氮磷环境下的生长速度呈负相关,即开始绿烂的时间越长,在此过程中紫菜的生长速度越慢。本实验中杂交品系 F_2 在低氮磷培养液中培养了 9 d,说明坛紫菜不同品系之间存在

着差异。品系 A_2 、 B_2 、 C_2 较品系 D_2 和 E_2 快速的把体内储存的氮释放出来,结果氮的消耗过快,过早的出现浅绿色或浅黄色。由此说明品系 D_2 、 E_2 在低氮磷的情况下释放体内储藏氮磷速度较为缓慢,适应低氮磷环境具有优势,也对筛选适应低氮磷环境强的品系具有一定的作用。从表 8 可见,同一品系在每个时间段的藻体重量增长差异极显著,反映了其对水中和自身体内的氮磷利用情况不同,说明 5 种 F_2 藻体在低氮磷的情况下没有共同趋势,品系间差异明显。

3.3 杂交品系质量的初步分析

杂交 F_2 中 5 种品系色素蛋白含量对照组相比差异显著,其中 D_2 比对照组增加 1 倍多。从总的色素蛋白含量上看,5 种杂交品系在质量上具有一定的优势,因为 R-RPE 和 R-RPC 中都是以丙氨酸含量最高,亮氨酸和缬氨酸次之,占总和的 40.0% 左右,APC 中以亮氨酸和异亮氨酸含量最高,其次是丙氨酸和缬氨酸约占 45.0% 左右^[12],丙氨酸、亮氨酸和缬氨酸在紫菜的鲜味上发挥着重要作用。

表 7 F₁ 和 F₂ 在培养 10 d 时长度 t-检验
Tab. 7 t-test of the length between F₁ and F₂ at the tenth day

		假定方差相等并行的检验 Levene's test for equality of variances			平均数相等的 t-test t-test for equality of means					
		F 检验 F	显著性 Sig.	t	自由度 df	显著性(双尾) Sig. (2-tailed)	平均数差异 mean difference	标准误的差异 std. error difference	95% 的置信区间的差异 95% confidence interval of the difference	
								lower	upper	
A	方差相等时 equal variances assumed	2.819	0.099	0.669	58	0.506	1.466 67	2.190 74	-2.918 57	5.851 90
	方差不等时 equal variances not assumed			0.669	53.479	0.506	1.466 67	2.190 74	-2.926 48	5.859 81
B	方差相等时 equal variances assumed	1.167	0.284	-5.588	58	0.000 **	-12.650 00	2.263 80	-17.181 49	-8.118 51
	方差不等时 equal variances not assumed			-5.588	56.067	0.000	-12.650 00	2.263 80	-17.184 82	-8.115 18
C	方差相等时 equal variances assumed	1.939	0.169	-2.072	58	0.043 *	-2.776 67	1.339 84	-5.458 65	-.0946 8
	方差不等时 equal variances not assumed			-2.072	55.860	0.043	-2.776 67	1.339 84	-5.460 84	-.0924 9
D	方差相等时 equal variances assumed	13.781	0.000	3.277	58	0.002 *	7.750 60	2.365 27	3.016 00	12.485 19
	方差不等时 equal variances not assumed			3.277	46.669	0.002	7.750 60	2.365 27	2.991 40	12.509 79
E	方差相等时 equal variances assumed	9.126	0.004	2.244	58	0.029 *	3.080 00	1.372 84	0.331 97	5.828 03
	方差不等时 equal variances not assumed			2.244	40.020	0.030	3.080 00	1.372 84	0.305 43	5.854 57

注: * 示差异显著; ** 示差异极显著

Notes: * The mean difference is significant at the 0.05 level; ** The mean difference is significant at the 0.01 level

表 8 低氮磷情况下 F₂ 增重的品系和测量时间双因素方差分析

Tab. 8 Two way analysis of variance of strains and measure-time of F₂ in low nitrogen and phosphorus

来源 source	第三类离差平方和 type III sum of squares	自由度 df	平均离差方 mean square	F 检验 F	显著性 sig.
校正模型 corrected model	6 342.459 ^(a)	14	453.033	20.191	0.000
截距 Intercept	283 392.554	1	283 392.554	12 630.367	0.000
品系 strain	1 202.318 **	4	300.580	13.396	0.000
测量时间 meterage time	3 476.296 **	2	1 738.148	77.467	0.000
品系 × 测量时间 strain × time	2 696.007 **	8	337.001	15.020	0.000
误差 error	7 538.965	336	22.437		
总和 total	310 310.655	351			
校正总和 corrected total	13 881.425	350			

注:a 回归平方为 0.457(调整后的回归方差为 0.434)

Notes: R squared = 0.457 (adjusted R squared = 0.434)

参考文献:

[1] 王素娟,马凌波.⁶⁰Co-γ 射线诱变条纹紫菜丝状体的研究[J].海洋科学,1999,4:43-46.

[2] 戴继勋,张全启,包振民,等.紫菜原生质体的纯系培养、诱变处理和种间细胞融合的研究[J].海洋与湖沼,1990,21(3):293-296.

- [3] 匡梅,许璞,王素娟. γ -射线对条斑紫菜和坛紫菜诱变作用的初步研究[J]. 上海水产大学学报,1997,6(4):241-245.
- [4] 许璞,费修缙,张学成,等. 紫菜色素突变体诱导的研究 I-NG 对紫菜壳孢子诱变的效果及遗传分析[J]. 海洋通报,2002,21(5):19-25.
- [5] 纪德华,陈昌生,郑伟刚,等. ^{60}Co - γ 射线辐照坛紫菜叶状体及单克隆培养德研究[J]. 台湾海峡,2005,24(2):171-178.
- [6] 陈昌生,纪德华,姚惠,等. 不同品系坛紫菜自由丝状体在异常条件下生长发育的比较[J]. 台湾海峡,2004,23(4):488-495.
- [7] Jensen A. Chlorophylls and carotenoids [M]. London:Cambridge Univ Press,1978:59-70.
- [8] 吴仲庆. 水产生物遗传育种学[M]. 厦门:厦门大学出版社,2000:60-76.
- [9] 潘瑞炽,董愚得. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,1999:330-331.
- [10] Jeff T. Effect of tissue nitrogen and phosphorus quota on growth of *Porphyra yezoensis* blades in suspension cultures[J]. Hydrobiologia,1999,2:398-399.
- [11] 潘瑞炽,董愚得. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,1999:31-32.
- [12] 高洪峰,曹之达,纪明侯. 坛紫菜中藻胆蛋白性质与化学组成研究[J]. 海洋湖沼,1997,24(4):350-355.

关键词取词的一般原则

(1) GB7713·87 规定:每篇报告、论文应选取 3~8 个词作为关键词。

(2) 所选的重要概念应是构成主题中心的概念。在构成主题中心的概念中,首先要选取形成论文中心论点的最主要概念。

(3) 所选的重要概念对主题中心应有修饰和限定作用。选好主题中心概念后,还应从多方面选择围绕主题中心的关联主题要素,例如表示种类、作用、方法、性质、结构、条件、用途、归属、时间、场所、原理、过程、结构的概念可作为主题要素。

(4) 注意选择隐含在字里行间的重要概念和对主题背景、动机、经过及对今后课题有信息价值的概念。

(5) 选词不宜过多或过少,过多会造成过量标引,过少会遗漏一些有价值的信息点,容易造成误检或漏检。

(6) 关键词应该是名词、术语或名词性词组。一般地说,虚词不能做关键词,有些实词(动词、形容词、副词等)也不宜选用。

(7) 此外,随着科学技术的发展,新的科技名词术语不断出现,许多科技论文选用的关键词都是在现有的主题词表中没有列出的新学科或新技术术语。使用这些新的自由词时应看其是否符合下列条件:①具有独立的检索意义;②促进新的学科或技术发展;③被国内外科技文献的检索系统接纳;④与国际上著名科技刊物特别是著名检索刊物关键词的选用接轨。

(8) 规范的书写方法是"关键词",有些文章写成"主题词"或"关键字"是不对的。关键词之间应用";"而不应该用"、"或"、“"等连接。

(9) 要求书写与中文关键词对应的英文关键词。