

坛紫菜杂交重组品系的选育与特性分析

丁洪昌¹, 严兴洪^{1,2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学省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:坛紫菜杂交重组品系(HR-6)具有叶状体生长前期生长较快,色素蛋白含量高,但成熟较早,生长期短,丝状体的壳孢子放散量较少等特性;坛紫菜另一个杂交重组品系(HR-5)具有叶状体生长前期生长较慢,色素蛋白含量高,但成熟晚,生长期较长,丝状体的壳孢子放散量多等特性。为改善HR-6品系叶状体成熟较早,壳孢子放散量较少的弱点,本文以HR-6品系为父本,HR-5品系为母本进行种内杂交,从杂合丝状体产生的F₁叶状体中选育出综合性状更加优良的品系(WD-7)。在叶状体的快速生长前期(日龄30~45 d),父本品系的绝对生长率为6.68 cm/d,母本品系为3.63 cm/d,WD-7品系为6.67 cm/d;在叶状体的快速生长中后期(日龄46~60 d),父本品系的绝对生长率降至5.15 cm/d,母本品系则升至7.27 cm/d,而WD-7品系则高达11.54 cm/d。父本品系的叶状体成熟最早,培养35 d左右,大部分个体已成熟;WD-7品系遗传了母本品系成熟较晚的优点,日龄55 d之后,大部分个体才出现成熟。日龄35 d的叶状体平均厚度,WD-7品系为29.87 μm,分别比父、母本品系增加了10%和16%,藻体的韧性明显增强。WD-7品系的壳孢子放散总量为183.42万个/壳,分别是父、母本品系的1.17倍和0.57倍。上述结果证实,WD-7品系不仅遗传了父本品系叶状体生长前期生长较快的特性,同时又遗传了母本品系叶状体成熟晚、生长期长、中后期生长快的优点,壳孢子放散量也比父本品系有所增加,该品系有望被培育成适宜大规模栽培的新品种。

关键词:坛紫菜;叶状体;种内杂交;重组品系;绝对生长率

中图分类号: S 968.4

文献标志码: A

紫菜味道鲜美,营养丰富,具有抗衰老^[1]、降血脂^[2]等功效。目前我国大规模人工栽培的紫菜主要有坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)和条斑紫菜(*Pyropia yezoensis*)。其中坛紫菜被广泛栽培在福建、浙江和广东沿海,其年产量占全国紫菜年产量的75%左右^[3]。上世纪六十年代,随着坛紫菜的基本生物学、生活史、全人工采苗和人工栽培技术等研究取得成功^[4],该紫菜的人工栽培业得以建立和发展。经过50多年栽培使用的坛紫菜野生种,其种质出现了较严重的退化,在产量、品

质和抗逆性等方面均有所下降。所以,培育出适宜大规模栽培的新品种对坛紫菜产业的可持续发展具有重要价值。

近十多年来,坛紫菜的品种改良工作取得了一定进展,利用诱变育种和杂交育种等技术选育出了一些优质高产的坛紫菜新品种(系)^[5-8]。在坛紫菜生产中,叶状体的生长速度和成熟期长短均是影响紫菜产量的重要因素,而叶状体的光合色素与色素蛋白含量则会影响紫菜的品质^[9-11],栽培品种贝壳丝状体的壳孢子放散量多

收稿日期:2015-04-21

修回日期:2015-05-28

资助项目:国家“八六三”高科技研究发展计划(2012AA10A411);国家自然科学基金(31072208);国家海洋局公益专项(201105008,201105023);国家农业科技成果转化资金项目(2013GB2C220537);农业部公益性专项(200903030);上海市委重点科技攻关项目(10391901100);上海高校水产学一流学科建设项目;福建省科技重大专项(2011NZ0001-1);福建省省长专项基金(2014S1477-10)

通信作者:严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

与少,直接影响着该品种是否适宜在生产上推广使用^[12]。在以往的坛紫菜育种中,选育性状主要集中在叶状体的生长速度、成熟期、藻体厚度和色素蛋白含量等,而壳孢子放散量没有被列为新品系选育的主要目标性状,导致一些坛紫菜新品种(系)在生产上大规模使用时遇到一定的难度^[12]。所以培育出产量和品质优良,同时壳孢子放散量又多的坛紫菜新品种对增产增收和大规模推广十分重要。

藻类杂交育种是以基因型不同的品系进行交配产生具有一定优势的杂交种,再经过反复选育获得新品种的方法^[13],其优势是可以有目的地将双亲的优良性状重组到杂交子代中。吴宏肖等^[14]通过种间杂交选出4个坛紫菜杂交重组品系,其中的HR-6品系具有叶状体生长前期生长较快,色素蛋白含量高,但成熟较早,生长期短,丝状体的壳孢子放散量较少等特性;坛紫菜的另一个杂交重组品系(HR-5)具有叶状体生长前期生长较慢,色素蛋白含量高,但成熟晚,生长期较长,丝状体的壳孢子放散量多等特性。本研究是以HR-6品系为父本,HR-5品系为母本,通过品系间的杂交,选育出具有父、母本品系各自优势的新品系,最终将其培育成适合大规模推广使用的新品种。

1 材料和方法

1.1 亲本品系

本实验所用的父本品系(HR-6)和母本品系(HR-5)均是通过印度产紫菜(*Pr-WT01*,父本)和坛紫菜诱变品系(*Ph-HMC5*,母本)杂交获得的重组选育品系^[14]。2个品系均以自由丝状体的形式被保存于实验室内^[15]。壳孢子采苗与叶状体的培养方法参考相关研究^[16]。

1.2 杂交实验

当父、母本品系的叶状体接近成熟时,分别选取梢部长约2 cm的藻体,按1:1比例进行混合培养。培养约3 d,当母本叶片上出现红色的果孢子囊后,移去父本叶片,保留母本叶片继续培养。待果孢子囊充分成熟后,将母本叶片阴干处理2~3 h后,放入含50 mL培养液的培养皿($\Phi=9$ cm)中静置培养,数日后,释放的果孢子发育成丝状体,随后把单个丝状体挑出培养于试管中。待丝状体长到一定大小的藻落后,将其粉碎接种到文

蛤壳上面,之后培养成贝壳丝状体,贝壳丝状体的培养方法与条件参考相关研究^[16]。

1.3 杂合丝状体的F₁叶状体的培养

待杂合丝状体成熟后,放散出大量的壳孢子,把收集到的壳孢子培养成叶状体,具体方法参考相关研究^[16]。

1.4 优良品系的分离

培养杂合丝状体的F₁叶状体约60 d,从出现的颜色嵌合体中挑选出5个具有一定生长优势的色块藻体,利用海螺酶将它们分别酶解,分离出单离体细胞进行体外再生培养^[17]。培养数周后,分别从体细胞再生体中选取生长最快的叶状体,进行单株培养。当再生叶状体成熟时,利用叶状体的单性生殖最终获得纯合的自由丝状体(品系)^[18]。通过对比5个选育品系与亲本品系的叶状体形态、颜色、生长速度、藻体韧性、成熟期等性状,从中筛选出综合性状最优的品系。

1.5 叶状体生长的测定

当壳孢子苗生长至30 d时,随机挑选出每个品系的20棵苗进行培养,每隔5天分别用直尺(No. 6240,得力公司)和电子天平(BS124S,赛多利斯公司)测量一次它们的长度和鲜重。绝对生长率采用公式 $K_1 = (L - L_0)/t$ 计算;特定生长率采用公式 $K_2 = (\ln N - \ln N_0)/t$ 计算^[19]。式中, L (cm)、 N (cm)均为某次测量的叶状体长度, L_0 (cm)、 N_0 (cm)为前一次测量的叶状体的长度, t (d)为培养时间。

1.6 叶状体活体吸收光谱和色素含量的测定

各品系的F₁叶状体生长至35 d时,用紫外分光光度计(UV-2600,岛津公司)分别测量它们的活体吸收光谱、叶绿素 a (chlorophyll a , Chl. a)、藻红蛋白(phycoerythrin, PE)和藻蓝蛋白(phycocyanin, PC)的含量。活体吸收光谱和Chl. a 含量的测定方法参考相关研究^[15],PE和PC的测定方法同高洪峰^[20],总藻胆蛋白含量为PE与PC之和。

1.7 叶状体厚度的测定

各品系的F₁叶状体生长至35 d时,分别测量它们的基部、中部和梢部的厚度。将叶状体平铺在塑料板上,用双面刀片(74-C, FLYING EAGLE)进行徒手切片,用光学显微镜(Nikon 90i,尼康公司)测量各部位的厚度,每个部位测量30个样品,取其平均值为该部位的平均厚度。

1.8 壳孢子放散量的测定

待各品系的贝壳丝状体成熟后,每个品系各取 1 个贝壳置于含 50 mL 培养液的塑料杯中进行充气培养,培养条件:温度 $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照密度 $50 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,明暗周期 10L:14D。每个品系设置 3 个平行组。每日 13:00 把壳孢子水倒入培养皿($\Phi=9 \text{ cm}$)中,静置 24 h 后,待壳孢子附着后再进行计数,壳孢子数的统计方法同侯同玉^[21]。当壳孢子开始放散后连续 20 d 统计壳孢子日放散量,每个品系取 3 个贝壳的平均数,得出单个贝壳的壳孢子日放散量和壳孢子放散总量。

1.9 数据统计分析

实验数据用 Excel 2010 进行常规计算后,用 SPSS 18.0 软件进行独立样本 *T* 检验。统计值用平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD) 描述,统计结果 $P < 0.05$ 时认为存在显著差异, $P < 0.01$ 时认为存在极显著差异。活体吸收光谱曲线用 Origin 9.0 软件制作。

2 结果

2.1 杂交结果

父、母本叶片混合培养 3 d 左右,在显微镜下可观察到母本叶片上出现较多的红色果孢子囊,单独再培养母本叶片 4 ~ 6 d,果孢子囊逐渐成熟,阴干后的叶片在培养皿中静置培养 2 ~ 3 d,就释放出一定数量的果孢子,后者迅速萌发并长成杂合丝状体藻落(图版 - 1 ~ 6)。

2.2 优良品系的筛选

由杂合丝状体的壳孢子长成的 F_1 叶状体,90% 以上的个体为颜色嵌合体,不同的色块呈直线型排列,极少数为单色叶状体。培养至 60 d 时,从 5 个嵌合体中筛选出 5 个颜色好、生长快的色块藻体,然后利用海螺酶将它们分别酶解,分离出单离体细胞进行体外再生培养。培养 6 ~ 7 周后,分别从体细胞再生体中选取生长最快的叶状体,进行单株培养。再培养数周后,分别通过单性生殖获得纯合的自由丝状体(品系)。通过对比 5 个选育品系与亲本品系的叶状体形态、颜色、生长速度、藻体韧性、成熟期等性状,最终选育出综合性状最优的品系,取名为 WD-7 品系。

2.3 优良品系 F_1 叶状体的生长

WD-7 品系的 F_1 叶状体呈细长型,藻体颜色较一致,呈红褐色(图版 - 7 ~ 9),藻体厚度适中,

韧性好,具有较稀疏的边缘刺。

在叶状体快速生长前期(日龄 30 ~ 45 d),WD-7 品系的平均体长与父本品系较接近,但远大于母本品系;在叶状体快速生长的中后期(日龄 45 ~ 60 d),父本品系的生长速度明显变缓,母本和 WD-7 品系仍保持快速生长(图 1)。日龄 60 d 时,叶状体的平均体长,其父本品系为 201.63 cm,母本品系为 169.88 cm,而 WD-7 品系高达 292.63 cm,分别是父、母本品系的 1.45 倍和 1.72 倍。

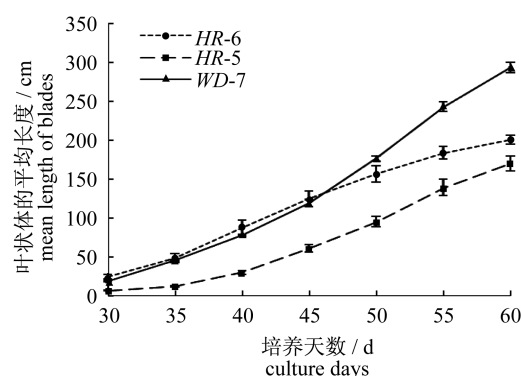


图 1 坛紫菜亲本品系 (HR-6, HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F_1 叶状体生长曲线

Fig. 1 Growth curves of F_1 gametophytic blades of the parental strains (HR-6, HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *Pyropia haitanensis*

3 个品系的叶状体绝对生长率均呈先升后降的趋势(表 1)。父本品系的最大绝对生长率出现较早,苗龄 36 ~ 40 d 的绝对生长率达到最大值,为 7.83 cm/d,随后逐渐降低;母本品系的绝对生长率生长前期较低,苗龄 51 ~ 55 d 时达到最大值,为 8.80 cm/d;WD-7 品系的绝对生长率,在生长前期与父本品系较接近,苗龄 51 ~ 55 d 时达到最大值,为 13.31 cm/d,明显比父、母本品系高。但是,WD-7 品系的相对生长率介于父、母本品系之间。

当日龄为 30 ~ 50 d 时,WD-7 品系叶状体的平均单棵鲜重与父本品系接近,但 50 d 之后,WD-7 品系叶状体的平均单棵鲜重的增长明显比父本品系快(图 2)。在整个培养期间,母本品系叶状体的平均单棵鲜重增长一直较慢。日龄为 60 d 的叶状体,WD-7 品系的平均单棵鲜重为 2.24 g,分别是父、母本品系的 1.37 倍和 2.80 倍。

表 1 坛紫菜亲本品系 (HR-6, HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F₁ 叶状体生长率
Tab. 1 Growth rates of F₁ gametophytic blades of the parental strains (HR-6, HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis*

培养天数/d culture days	绝对生长率/(cm/d) absolute growth rate			特定生长率/(%/d) specific growth rate		
	HR-6	HR-5	WD-7	HR-6	HR-5	WD-7
31 ~ 35	4.79	1.16	5.39 (1.13 ^a , 4.65 ^b)	13.72	12.92	17.91 (1.31 ^c , 1.39 ^d)
36 ~ 40	7.83	3.53	6.38 (0.81, 1.81)	11.88	17.93	10.63 (0.89, 0.59)
41 ~ 45	7.41	6.20	8.23 (1.11, 1.33)	7.07	14.24	8.52 (1.21, 0.60)
46 ~ 50	6.36	6.78	11.25 (1.77, 1.66)	4.55	8.87	7.88 (1.73, 0.89)
51 ~ 55	5.47	8.80	13.31 (2.43, 1.51)	3.22	7.63	6.42 (1.99, 0.84)
56 ~ 60	3.61	6.23	10.05 (2.78, 1.61)	1.88	4.05	3.77 (2.01, 0.93)

注: a & c 为优良品系 (WD-7) 与父本品系 (HR-6) 的生长率比值; b, d 为优良品系 (WD-7) 与母本品系 (HR-5) 的生长率比值

Notes: a, c was the ratio of the growth rates of WD-7 and HR-6; b & d was the ratio of the growth rates of WD-7 and HR-5

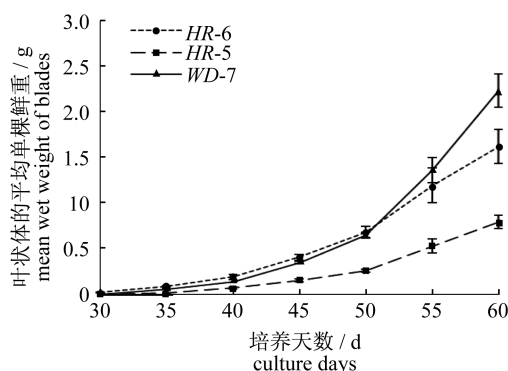


图 2 坛紫菜亲本品系 (HR-6, HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F₁ 叶状体平均单株鲜重

Fig. 2 The wet weight per F₁ gametophytic blade of the parental strains (HR-6, HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis*

父本品系的叶状体成熟较早, 日龄 26 ~ 30 d 的叶状体就出现了成熟, 成熟的高峰出现在 36 ~ 40 d, 培养至 40 d 时, 成熟个体的百分率已达 83%; 母本品系和 WD-7 品系的成熟均较晚, 培养 46 ~ 50 d 的叶状体才出现成熟, 成熟高峰出现在 51 ~ 60 d, 培养至 60 d 时, 成熟个体的百分率分别达 97% 和 80% (图 3)。

2.4 叶状体的活体吸收光谱与主要色素蛋白含量

在 350 ~ 750 nm 波长范围内, 3 个品系叶状体的活体吸收光谱均存在 5 个明显的吸收峰 (图 4)。第 1、4、5 个吸收峰的峰值, 父、母本品系间相差无几, 但第 2 和第 3 个吸收峰的峰值却是母本品系高于父本品系, 暗示母本品系的 PE 含量比

父本品系高, 而 WD-7 品系的 5 个吸收峰的峰值均比父、母本品系低。

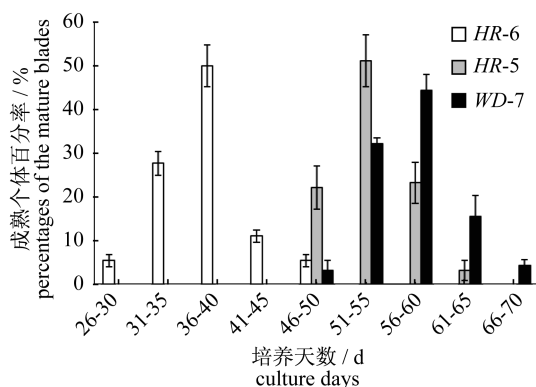


图 3 坛紫菜亲本品系 (HR-6, HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F₁ 叶状体成熟个体百分率

Fig. 3 Percentages of the mature F₁ blades of the parental strains (HR-6, HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis*

日龄为 35 d 的叶状体, WD-7 品系的叶绿素 *a* 含量为 7.62 mg/g, 分别比父、母本品系降低了 29% 和 24%, 同时, WD-7 品系的总藻胆蛋白含量为 77.40 mg/g, 分别比父、母本品系降低了 23% 和 35% (图 5)。

2.5 叶状体的厚度

在 3 个品系的 F₁ 叶状体中, 不同部位的藻体厚度不同, 但均呈越靠近藻体的梢部厚度越薄的趋势 (表 2)。父、母本品系的平均厚度分别为 25.73 μm 和 27.09 μm, WD-7 品系比父、母本品系都厚, 平均厚度为 29.87 μm, 它的叶状体韧性也明显增加。

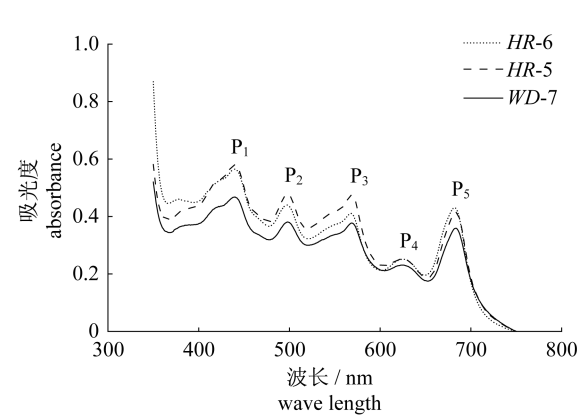


图 4 培养 35 d 的坛紫菜亲本品系 (HR-6,HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F₁ 叶状体活体吸收光谱

Fig.4 *In vivo* absorption spectra of F₁ gametophytic blades of the parental strains (HR-6,HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis* after being cultured for 35 days

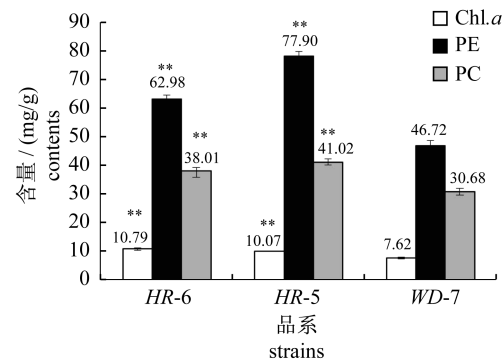


图 5 培养 35 d 的坛紫菜亲本品系 (HR-6,HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F₁ 叶状体 Chl.a、PE 和 PC 含量
** 表示差异极显著 ($P < 0.01$, t -test),下同

Fig.5 Contents of Chl.a,PE,PC in the F₁ gametophytic blades of the parental strains (HR-6,HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis* after being cultured for 35 days
** highly significant difference ($P < 0.01$, t -test), the same as the following

表 2 培养 35 d 的坛紫菜亲本品系 (HR-6,HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的 F₁ 叶状体不同部位的厚度
Tab.2 Thickness of different parts of F₁ gametophytic blades of the parental strains (HR-6,HR-5) and the improved strain (WD-7) by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis* after being cultured for 35 days

品系 strains	藻体各部位的平均厚度/ μm thickness of different parts of the blades			平均厚度/ μm mean thickness
	梢部 apical	中部 middle	基部 basal	
HR-6	23.52 $\pm$ 1.88 **	27.70 $\pm$ 1.67 **	30.07 $\pm$ 2.26 **	27.09 **
HR-5	20.43 $\pm$ 1.86 **	26.25 $\pm$ 1.03 **	30.51 $\pm$ 1.53 **	25.73 **
WD-7	25.45 $\pm$ 1.63	29.42 $\pm$ 2.86	34.73 $\pm$ 1.71	29.87

2.6 壳孢子放散量

在壳孢子开始放散后的 20 d 内,3 个品系的贝壳丝状体均出现了 3 个较大的放散高峰,且它们均出现在第 11 天之前(图 6)。壳孢子放散的第一个高峰,父本品系出现在第 3 天,放散量为 22.56 万个/贝壳,母本品系出现在第 2 天,放散量为 79.16 万个/贝壳,WD-7 品系出现在第 3 天,放散量为 53.93 万个/贝壳。父、母本品系和 WD-7 品系的壳孢子放散总量分别为 157.12、322.44 和 183.42 万个/贝壳。而头 6 天的壳孢子合计数,WD-7 品系为 120.61 万个/贝壳,分别是父、母本品系的 2.08 倍和 0.50 倍,差异性极显著 ($P < 0.01$)。

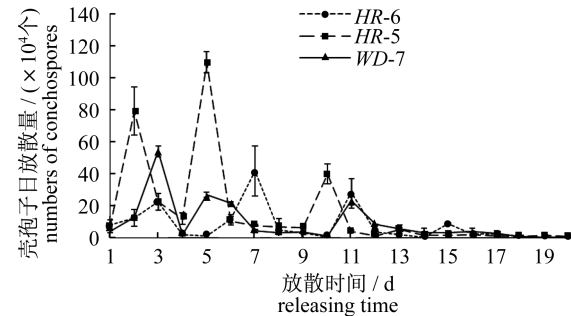


图 6 坛紫菜亲本品系 (HR-6,HR-5) 和种内杂交重组优良品系 (WD-7) 的贝壳丝状体连续 20 d 壳孢子放散量
Fig.6 Numbers of the released conchospores of the parental strains (HR-6,HR-5) and the improved strain (WD-7) produced by genetic recombinant of intraspecific hybridization in *P. haitanensis* during 20 days of conchospore-releasing

3 讨论

紫菜杂交育种主要利用杂交重组优势,即性状差异较大的个体间进行交配产生的杂交子代在生长、生化特性等方面优于亲本^[14]。本实验通过紫菜不同品系间的种内杂交选育出来的 WD-7 品系,它的一些优良性状分别遗传自父本和母本品系。如叶状体生长前期生长较快、藻体韧性好的特性与父本品系相似;而叶状体成熟晚,生长期长,生长期的中后期生长快等性状又与母本品系几乎一致,尤其是中后期的生长速度还明显快于母本品系。此外,丝状体壳孢子放散量的性状在父本的基础上得到了改善,但它的 3 种主要光合色素含量比父、母本品系均降低,没有表现出杂交重组优势。

坛紫菜一般可收割数次,收获的菜俗称“头水”、“二水”、“三水”、“四水”菜等,菜的口感和品质,一般随着收割次数的增加而变差^[22]。其中头水紫菜一般在叶状体日龄 35~45 d 时采收,菜的价格最高,因此,头水紫菜的产量和品质对一年的收成影响比较大。WD-7 品系的叶状体在生长前期具有与父本品系相似的快速生长优势,培养至 50 d 时,两个品系的叶状体平均鲜重几乎一致,但父本品系的叶状体由于成熟较早,成熟后的生长速度和鲜菜品质明显下降。所以,WD-7 品系在生长与品质方面比父本品系具有优势。

紫菜品质的好坏主要取决于 3 种主要光合色素(Chl. *a*、PE 和 PC)含量的高低^[9-11]。至今大规模人工栽培所使用的野生型坛紫菜种,其室内培养的叶状体的藻胆蛋白含量为 46 mg/g^[12],而本实验选育的 WD-7 品系的藻胆蛋白含量却高达 77 mg/g,具有更好的品质。WD-7 品系的色素和色素蛋白总含量虽然比父、母本品系低,但它的叶状体颜色更接近野生型的颜色,生长更快,三种色素间的含量比似乎更有利于生长^[23]。父、母本品系的色素和色素蛋白含量虽然比 WD-7 品系高,但海区中试结果证明,由于其藻红蛋白含量过高,藻体太红,加工成紫菜的颜色并不被好评(未发表的研究结果)。紫菜叶状体的厚度也是影响紫菜品质的重要因素之一,藻体太厚,不利于机械化紫菜加工^[12],且口感较硬;藻体太薄,则不适合在风浪较大的海区栽培。WD-7 品系的叶状体平均厚度为 29.87 μm ,比父、母本品系均厚,增加了

藻体的韧性和抗风浪能力。此外,它的藻体又不像野生型坛紫菜种那么厚^[12],仍便于机械化加工。

紫菜贝壳丝状体的壳孢子放散总量以及放散高峰出现时间的早晚会直接影响到生产上采苗工作能否顺利进行。生产上对紫菜壳孢子人工采苗要求壳孢子放散高峰出现早、放散集中^[24],而且每个贝壳需要有 10 万以上的壳孢子日放量时才能稳定有效地进行生产性附苗^[25]。WD-7 品系的壳孢子放散总量虽比母本品系少,但比父本品系有较大幅度的提高,尤其是该品系的放散高峰出现时间早,壳孢子放散集中,第 3 天的日放散量就超过了 50 万个,远优于父本品系,完全能满足生产上的需求。

综上所述,WD-7 品系具有生长快、生长期长、品质好、壳孢子放散量较多等优良特性,有望被培育成适宜生产应用的新品种。

参考文献:

- [1] Zhou H P, Chen Q H. Antiageing effect of the polysaccharide from *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 1989, 20 (4): 231 - 234. [周慧萍,陈琼华. 紫菜多糖抗衰老作用的实验研究. 中国药科大学学报, 1989, 20 (4): 231 - 234.]
- [2] Zhou H P, Chen Q H. Anticoagulative and antilipemic effect of polysaccharide from *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 1990, 21 (6): 358 - 360. [周慧萍,陈琼华. 紫菜多糖的抗凝血和降血脂作用. 中国药科大学学报, 1990, 21 (6): 358 - 360.]
- [3] Ma J H, Cai S Q. Cultivation and processing of *Porphyra yezoensis* [M]. Beijing: Science Press, 1996: 1 - 58. [马家海,蔡守清. 条斑紫菜的栽培与加工. 北京:科学出版社, 1996: 1 - 58.]
- [4] Fujian Fisheries Bureau. Artificial cultivation of *Porphyra haitanensis* [M]. Fuzhou: Fujian People Publishing House, 1979: 1 - 101. [福建水产局. 坛紫菜人工养殖. 福州:福建人民出版社, 1979: 1 - 101.]
- [5] Chen C S, Liang Y, Xu Y, et al. Selective breeding and comparison of economic traits of the new thallus strain *Porphyra haitanensis* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30 (2): 100 - 105. [陈昌生,梁艳,徐燕,等. 坛紫菜薄叶新品系选育及经济性状比较. 渔业科学进展. 2009, 30 (2): 100 - 105.]

- [6] Liang Y, Xu Y, Chen C S, *et al.* Research on the main economic traits of the new strain of high quality *Porphyra haitanensis* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(4): 108–116. [梁艳, 徐燕, 陈昌生, 等. 坛紫菜优质新品系(Q-1)主要经济性状的研究. 渔业科学进展. 2009, 30(4): 108–116.]
- [7] Yan X H, Ma S Y. Selection of a high-temperature resistant strain of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) [J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(1): 112–119. [严兴洪, 马少玉. 坛紫菜抗高温品系的筛选. 水产学报, 2007, 31(1): 112–119.]
- [8] Yan X H, Lv F, Liu C J, *et al.* Selection and characterization of a high-temperature tolerant strain of *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Applied Phycology, 2010, 22(4): 511–516.
- [9] Saitoh M, Araki S, Sakurai T, *et al.* Variations in contents of photosynthetic pigments, total nitrogen, total free amino acids and 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.
- [10] Jiang H X, Tang X R. Progress in breeding of red algae [J]. Marine Sciences, 2003, 27(6): 25–30. [姜红霞, 汤晓荣. 红藻育种研究进展. 海洋科学, 2003, 27(6): 25–30.]
- [11] Aruga Y. Color and the pigments of *Porphyra yezoensis* [J]. Iden, 1980, 34(9): 8–13.
- [12] Wang C Q, Yan X H, Huang L B, *et al.* Characterization of an improved strain (SF-2) of *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) and its pilot cultivation in mariculture farm [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(11): 1658–1667. [王长青, 严兴洪, 黄林彬, 等. 坛紫菜优良品系“申福2号”的特性分析与海区中试. 水产学报, 2011, 35(11): 1658–1667.]
- [13] He P M, Qin S, Yan X J, *et al.* Seaweed biotechnology and its application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 86–98. [何培明, 秦松, 严小军, 等. 海藻生物技术及其应用. 北京: 化学工业出版社, 2007: 86–98.]
- [14] Wu H X, Yan X H, *et al.* Selection and characterization of an improved strain produced by genetic recombinant of interspecific hybridization between *Pyropia haitanensis* and *Pyropia radi* [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(8): 1079–1088. [吴宏肖, 严兴洪, 等. 坛紫菜与 *Pyropia radi* 种间杂交重组优良品系的选育与特性分析. 水产学报, 2014, 38(8): 1079–1088.]
- [15] 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(1): 39–54.
- [16] Liang Z Q. Primary study on genetics and breeding of *Porphyra haitanensis* [D]. Shanghai: Shanghai Fisheries University, 2004: 10–22. [梁志强. 坛紫菜遗传育种的初步研究. 上海: 上海水产大学, 2004: 10–22.]
- [17] Yan X H, Wang S J. Studies on the development and differentiation of somatic cell in *Porphyra* spp. (Rhodophyta) [J]. Marine Sciences, 1990, 2(3): 195–208.
- [18] Yan X H, Liang Z J, Song W Q, *et al.* Induction and isolation of artificial pigmentation mutants in *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(2): 166–172. [严兴洪, 梁志强, 宋武林, 等. 坛紫菜人工色素突变体的诱变与分离. 水产学报, 2005, 29(2): 166–172.]
- [19] Stein J R. Handbook of phycological methods: Culture methods and growth measurements [M]. London: Cambridge University Press, 1973: 289–311.
- [20] Gao H F. The variation in the contents of phycobiliproteins from *Porphyra haitanensis* collected in different growing stages [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1993, 24(6): 645–648. [高洪峰. 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化. 海洋与湖沼, 1993, 24(6): 645–648.]
- [21] Hou T Y. Selection and characterization of the new strains of *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012: 6–19. [侯同玉. 坛紫菜新品系的选育与特性分析. 上海: 上海海洋大学, 2012: 6–19.]
- [22] Ying M M, Shi W Z, Pan F. Analysis of nutritional components in different harvest time of *Porphyra haitanensis* [J]. Zhejiang Agricultural Sciences, 2009, 21(6): 1227–1228. [应苗苗, 施文正, 潘峰. 紫菜不同收割期营养成分的分析. 浙江农业科学, 2009, 21(6): 1227–1228.]
- [23] Fujita Y, Migita S. Photosynthetic pigments of the different color types of *Porphyra yezoensis* Ueda and *P. tenera* Kjellman [R]. Nagasaki: Faculty of Fisheries Nagasaki University, 1984, 56: 7–13. [藤

- 田雄二,右田清治. 养殖ノリ色彩変異型の光合成色素. 長崎:長崎大学水産学部,1984,56:7-13.]
- [24] Ecological and Taxonomic Laboratory of Algae, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences. Artificial activation of *Porphyra yezoensis* [M]. Beijing: Science Press, 1978:23-108. [中国科学院海洋研究所藻类实验室生态组,藻类分类形态组. 条斑紫菜的人工养殖. 北京:科学出版社, 1978:23-108.]
- [25] Zeng C K, Wang S J, Liu S J. Seaweed cultivation [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1984:184-185. [曾呈奎,王素娟,刘思俭. 海藻栽培学. 上海:上海科学技术出版社, 1984:184-185.]

Selection and characterization of an improved strain by hybridization recombinant in *Pyropia haitanensis*

DING Hongchang¹, YAN Xinghong^{1,2*}

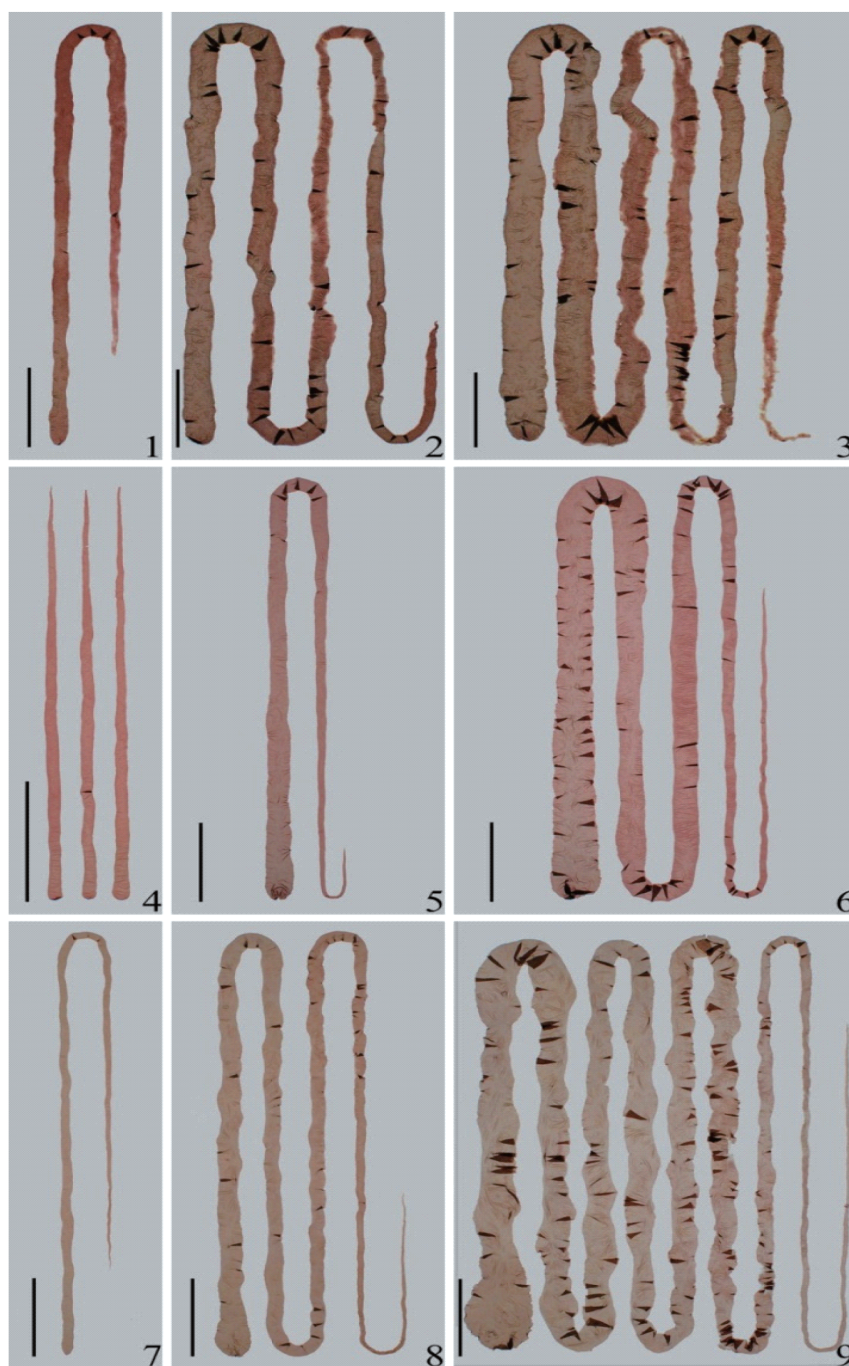
(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: In this crossing - experiment, the male parental strain (HR-6) of *Pyropia haitanensis* was characterized by faster growth speed in early growing stage, higher contents of photosynthetic pigments, but early maturity and shorter growth period in gametophytic blades phase, and low production of conchospores in conchocelis phase. The female parental strain (HR-5) of *Pyropia haitanensis* was characterized by lower growth speed in early growing stage, higher contents of photosynthetic pigments, later maturity and longer growth period in gametophytic blades phase, and high production of conchospores in conchocelis phase. From the F₁ color-sectored blades produced by the heterozygous conchocelies, an improved strain (WD-7) with better comprehensive properties than the parental strains was isolated. During the early growth period (30 - 45 days) of the blades, the absolute growth rate of the male and female parental strains was 6.68 and 3.63 cm/d, respectively, while that of WD-7 strain was 6.67 cm/d; During the middle growing stage (46 - 60 days) of the blades, the absolute growth rate of the male and female parental strains was 5.15 and 7.27 cm/d, respectively, while that of WD-7 strain was 11.54 cm/d. The male parental strain matured earlier, and most of the 35 - day - old blades matured. While the WD-7 strain matured later which was similar to the female parental strain, a large number of blades matured after being cultured for 55 days. The mean thickness of the 35 - day - old blades of WD-7 strain was 29.87 μm , increasing by 10% and 16% in contrast with that of the male and the female parental strains, respectively. The total number of conchospores released from WD-7 strain was 183.42×10^4 , which was 1.17 - fold and 0.57 - fold of that of its male and female parental strains, respectively. The above results confirmed that WD-7 strain inherited the excellent characteristics of faster growing speed in early growing stage from the male parental strain, meanwhile inherited the excellent characteristic of late maturity, long growth period, faster growth speed in the middle growing stage and high production of conchospores from the female parental strain, and may offer an alternative for the *Pyropia* industry.

Key words: *Pyropia haitanensis*; gametophytic blade; intraspecific hybridization; recombinant strain; absolute growth rate

Corresponding author: YAN Xinghong. E-mail: xhyan@shou.edu.cn



图版 坛紫菜亲本品系 (*HR-6*, *HR-5*) 和杂交重组优良品系 (*WD-7*) 的 F_1 叶状体形态与生长

1~3. 父本品系 (*HR-6*) 的 F_1 叶状体; 4~6. 母本品系 (*HR-5*) 的 F_1 叶状体; 7~9. 优良品系 (*WD-7*) 的 F_1 的叶状体; 1, 4, 7. 培养 35 d; 2, 5, 8. 培养 45 d; 3, 6, 9. 培养 55 d. 图中标尺均代表 5 cm.

Plate Morphology and growth of F_1 gametophytic blades of parental strains (*HR-6*, *HR-5*) and the improved strain (*WD-7*) produced by recombinant hybridization in *P. haitanensis*

1-3. The F_1 gametophytic blades of the male parental strain (*HR-6*); 4-6. The F_1 gametophytic blades of the female parental strain (*HR-5*); 7-9. The F_1 gametophytic blades of the improved strain (*WD-7*); The blades in 1, 4, 7 were cultured for 35 days; The blades in 2, 5, 8 were cultured for 45 days; The blades in 3, 6, 9 were cultured for 55 days. Scale bar in all figures are 5 cm.