

文章编号: 1000-0615(2000)03-0221-08

# 条斑紫菜色彩突变体的诱导、分离和特性分析

严兴洪<sup>1</sup>, 田中次郎<sup>2</sup>, 有贺佑胜<sup>3</sup>

(1. 长崎大学, 长崎市文教町 1-14, 长崎 852-8521, 日本;

2. 东京水产大学, 东京都港区港南 4-5-7, 东京 108-8477, 日本;

3. 东京农业大学, 东京都世田谷区丘 1-1-1, 东京 156-8502, 日本)

**摘要:** 条斑紫菜叶状体的原生质体经化学诱变剂——N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)处理后, 在它们的再生叶状体中, 出现了少量色彩发生变异的点状变异体。它们的色彩变异细胞呈点状不规则地与野生细胞或其它变异细胞镶嵌在一起。这类变异体的单孢子萌发成单色变异(或野生色)叶状体以及与母体相似的点状变异体。利用单色变异叶状体分离出绿色(*yel*), 浅桔黄色(*och*)以及深桔红色(*bus*)等三个突变株。突变株的叶状体活体吸收光谱以及藻红蛋白和藻蓝蛋白的含量与野生型相比均存在着明显的差异。经突变体与野生型杂交实验证明, 突变体 *yel* 和 *och* 均含一个与色彩变化有关并且符合孟德尔遗传规律的隐性变异基因。相关变异基因的着丝粒距离, 在突变体 *yel* 和 *och* 中分别为 11.5 和 15.8 图距。

**关键词:** 条斑紫菜; 色彩突变体; 诱变处理; N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍

中图分类号: S917 文献标识码: A

## Isolation and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)

YAN Xing-hong<sup>1</sup>, TANAKA Jiro<sup>2</sup>, ARUGA Yusho<sup>3</sup>

(1. Nagasaki University, Bunkyo-machi 14-1, Nagasaki 852-8521, Japan;

2. Tokyo University of Fisheries, Konan 4-5-7, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan;

3. Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka 1-1-1, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502, Japan)

**Abstract:** A few color-variegated blades appeared in the blades regenerated from the MNNG-treated protoplasts of *Porphyra yezoensis* Ueda. They consisted of the wild-type and color mutated cells which spottedly scattered. The monospores released from these spottedly variegated blades, developed into single colored blades (variants and the wild-type one) and the spottedly variegated blades, which were very similar to the mother blade. From the single colored variants, three mutant strains were obtained. They showed green, light yellow orange and dull red orange in color, and were designated as *yel*, *och* and *bus*, respectively. The mutant strains were stable in color in both gametophytic blade and conchocelis phases. In the two phases, each mutant strain showed characteristic differences in the *in vivo* absorption spectra, and had different contents of major photosynthetic pigments (chlorophyll  $\alpha$ , phycoerythrin and phycocyanin) as compared with the wild-type and with each other. By crossing the mutant with the wild-type, it was found that the color phenotypes of *yel* and *och* resulted from only a single recessive mutation respectively. The mutated gene associating with the color in *yel* or *och* is respectively

收稿日期: 2000-02-03

基金项目: 日本海苔振兴会提供部分经费, 在东京水产大学完成

作者简介: 严兴洪(1958-) 男, 博士, 日本学术振兴协会(JSPS)特别研究员, 长崎大学客座研究员。E-mail: yanxh58@hotmail.com

calculated to be **11.5** or **15.8** centimorgans from the chromosome's centomere.

**Key words:** *Porphyra yezoensis*; pigmentation mutant; *in vivo* absorption spectra; MNNG

紫菜的生活史一般可被划分微型的丝状体和大型的叶状体二个阶段。其叶状体被大规模养殖并被制成商品供食用。紫菜含三种主要的光合色素,即叶绿素 $\alpha$  (chlorophyll  $\alpha$ , Chl.  $\alpha$ )、藻红蛋白 (phycoerythrin, PE)和藻蓝蛋白(phyocyanin, PC)。紫菜的色彩变化主要由这三种色素的含量和它们之间的比例来决定。商品紫菜饼的质量好坏也主要取决于这三种色素的含量高低<sup>[1-3]</sup>。所以,研究紫菜色彩突变体不仅对它的遗传学,生理学等发展很重要,而且对突变育种和改良养殖品种均具有重要意义。

条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda)是目前最重要的养殖品种之一,在中国、日本和南韩等地被广泛养殖,但是对它的遗传背景却知道得很少。至今,条斑紫菜遗传学的研究仅限于分离出几个自然色彩突变体<sup>[4-6]</sup>和对它们的生理和遗传特性分析<sup>[7-12]</sup>。研究者利用化学和物理诱变处理试图得到紫菜的人工突变体,尽管他们观察到一些变异现象,但没有分离出突变株<sup>[13-17]</sup>。实验证明紫菜比江篱(*Gracilaria*)等海藻更难被一般的化学诱变剂所诱变<sup>[18]</sup>。于是, Mittman 和 van der Meer<sup>[19]</sup>使用强烈的化学诱变剂 MNNG 对一种名叫 *Porphyra purpurea* 的紫菜进行处理,获得了少量色彩突变体。进一步发展紫菜的遗传学和诱变育种研究都需要首先获得更多并且有用的人工突变体。为此,数年来我们用 MNNG 对条斑紫菜的生活史中各阶段的藻体进行诱变处理,成功地得到了大量色彩突变体。诱变结果因被处理的材料所处生活史阶段不同而不同。通过诱变处理条斑紫菜的壳孢子和单孢子的萌发体所得色彩突变体以及它们的色素变化特征已作报导<sup>[20]</sup> (Yan X H, Fujita Y, Aruga Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). 2000)。本文将报导由 MNNG 诱变处理条斑紫菜原生质体所产生的变异、3 种色彩突变体的分离以及它们的主要光合色素含量变化和基因杂交鉴定。

## 1 材料和方法

### 1.1 诱变处理和突变体分离

试验所用材料为野生型条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda),株名为 U-511。该株采自条斑紫菜的养殖群体,以自由丝状体的方式保存在室内约 20 年<sup>[12]</sup>。室内保存培养方法同参考文献[21]。培养液用自然海水加 PES 培养基<sup>[22]</sup>配成。用自由丝状体采壳孢子和叶状体的室内培养方法同参考文献[20]。培养 35 天后,选择健康的叶状体(长 5~10cm)作为分离原生质体的种藻。所用工具酶是海螺酶<sup>[23]</sup>。原生质体的分离方法同参考文献[24],原生质体被培养在直径为 9cm 的培养皿里。培养条件:温度 20℃,光照密度 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,明暗周期 12L:12D。使用的诱变剂为 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)。培养 3 天后,用含(10~30) $\times 10^{-6}$  MNNG 的培养液处理原生质体再生细胞 30min。吸干 MNNG 液后,用培养液洗涤皿内细胞 5 次以上,再加入新鲜培养液把它们培养在处理前的条件下。培养 30 天左右,挑出含色彩发生变异的叶状体,并把它们单个培养在培养皿内,将培养温度降至 15℃,以促使单孢子放散。培养 2 周后,从单孢子萌发体中挑选出单色变异体进行单个培养。当变异体达到 1cm 左右时,把它移到 500mL 的培养瓶内进行冲气培养,直至成熟放散孢子为止。收集到的果孢子被培养在培养皿内,使其萌发成丝状体。培养条件:温度 15℃,光照密度 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,明暗周期 10L:14D。2 周后,培养温度升至 23℃,其它条件不变。培养 3 个月,光照密度降至 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,明暗周期改为 14L:10D,其它培养条件不变,以长期保存突变株丝状体。

### 1.2 杂交实验

突变株的丝状体被培养一年后,用于诱导形成和放散壳孢子。采壳孢子和叶状体培养方法同参考

文献[20]。培养二个月后,选择健康叶状体(体长约15cm)作为母藻进行杂交实验。用单面刀片分别切下将要成熟的野生型和突变体的叶状体上半部份,把它们一起培养在加冲气的300mL培养瓶内使其杂交。2周后,分开两片叶状体进行单片培养,直至果孢子放出为止。收集到的果孢子被培养在培养皿内,使其萌发成丝状体。培养条件:温度23℃,光照密度 $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,明暗周期10L:14D。三周后,在倒置显微镜下,用玻璃微细管挑出单个丝状体,并单个培养在培养皿内,培养条件同于挑选前。培养半年左右,已成熟的单个丝状体藻落被用于采壳孢子以获得子一代( $F_1$ )叶状体。培养3周后,在显微镜下检查 $F_1$ 小叶状体的颜色和类型,并进行遗传学分析。

叶状体的活体吸收光谱和三种主要光合色素(Chl. a, PE和PC)含量的测定方法同参考文献[20]。

## 2 结果

### 2.1 诱变和突变体分离

经MNNG诱变处理后的原生质体被培养4周左右,就再生成叶状体。在它们当中出现了少量含色彩发生变异的叶状体。变异叶状体中的变异细胞呈点状不规则地与野生色细胞或其它变异细胞镶嵌在一起,被称为点状变异体。变异细胞呈绿色,红色,桔红色等颜色如图1所示。经MNNG处理后,再生细胞的相对成活率随MNNG浓度的增加而下降;经 $15\times 10^{-6}$  MNNG处理后导致一半左右的细胞死亡,同时也出现最多的变异体。MNNG的浓度高于或低于 $15\times 10^{-6}$ ,都导致了变异体频率下降。这类点状变异体比色彩未发生变异的叶状体生长要慢得多。把点状变异体挑出来单个再培养2周后就放出大量的单孢子。所得单孢子3周之内就萌发成单色叶状体和与母体非常相似的点状变异叶状体。经浓度为 $25\times 10^{-6}$ 的MNNG处理后,获得一棵含深桔红色和浅桔黄色变异细胞的点状变异体。在它的单孢子萌发体中,出现了深桔红色和浅桔黄色的单色变异叶状体以及同样含深桔红色和浅桔黄色两种变异细胞的点状变异叶状体。两类单色变异叶状体稳定,其颜色不再变化。培养约3个月,它们就长成大叶状体并逐渐成熟放出果孢子。各自所得的果孢子被培养成自由丝状体,并作为突变株保存起来。依据色名词典<sup>[25]</sup>的颜色分类,所分离到的深桔红突变株被取名为“bus”,浅桔黄色突变株被取名为“och”。用相同的分离方法从一棵含绿色变异细胞和野生色细胞的点状变异体中分离到一个绿色突变株,取名为“yel”。

### 2.2 突变株的叶状体活体吸收光谱和主要光合色素含量变化

突变株的自由丝状体被培养一年左右就成熟了,被用于采壳孢子。把同时采到的三种突变株和野生型的壳孢子培养在相同的条件下,以获得叶状体。每个突变株的壳孢子只萌发成一种单色叶状体。培养8周左右,选体长约15cm的叶状体,进行活体吸收光谱和主要光合色素含量测定。条斑紫菜野生型叶状体的活体吸收光谱中,在波长350~750nm之间有5个吸收高峰,从短波到长波依次被标记为P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>、P<sub>3</sub>、P<sub>4</sub>和P<sub>5</sub>。P<sub>1</sub>主要由chl. a和β-胡萝卜素, P<sub>2</sub>由PE和β-胡萝卜素, P<sub>3</sub>由PE, P<sub>4</sub>由PC, P<sub>5</sub>由chl. a的吸收所致<sup>[2]</sup>。三种突变株的叶状体活体吸收光谱如图2所示,它们与野生型叶状体一样,均有5个吸收高峰。但是,同野生型相比,突变体yel显示了很低的P<sub>2</sub>和P<sub>3</sub>以及较高的P<sub>4</sub>;突变体och的P<sub>2</sub>、P<sub>3</sub>

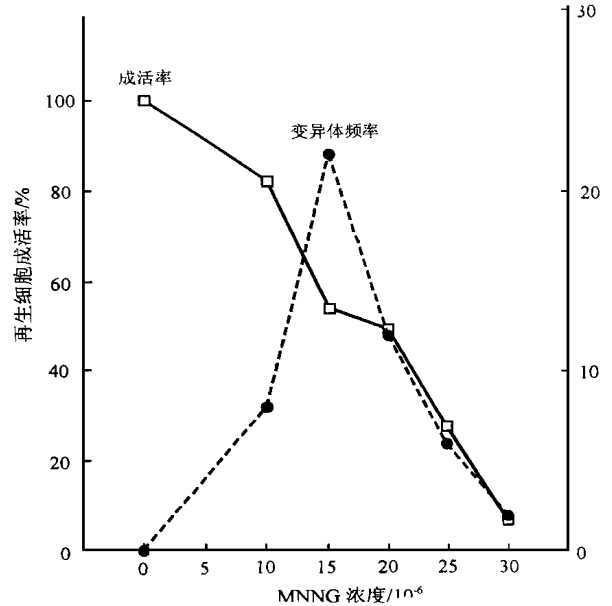


图1 经MNNG处理的原生质体再生细胞成活率和再生体中的变异体频率

Fig. 1 Relative survival rate of cells derived from the NNG-treated protoplasts and frequency of the color variegated blades in *P. yezoensis* by treatment of MNNG

和 P4 明显比野生型低,而且 P4 的峰顶向长波方向移动了约 3nm; 突变体 *bus* 的 P4 比野生型低很多并且它的峰顶也向长波方向移动了约 4nm。三种突变株的自由丝状体活体吸收光谱与各自的叶状体活体吸收光谱基本相同。突变株叶状体的 chl.  $\alpha$ , PE 和 PC 含量如图 3 所示。各突变体的 chl.  $\alpha$  含量与野生型相比,没有明显的差异。但是, *yel* 和 *och* 的 PE 明显比野生型低,而 *bus* 的 PE 几乎与野生型相等。各突变株的 PC 含量与野生型相比, *yel* 稍有增加, *och* 则稍有降低,而 *bus* 则明显降低。突变体和野生型的这三种色素含量的相互比如图 4 所示。三种突变体的 PE/ chl.  $\alpha$ , PC/ chl.  $\alpha$  和 PE/ PC 的比与野生型相比表现出明显的差异,突变体之间相比也显示了很大的差异。

三种突变株自由丝状体的这三种主要光合色素含量变化与各自叶状体中的变化基本相同。

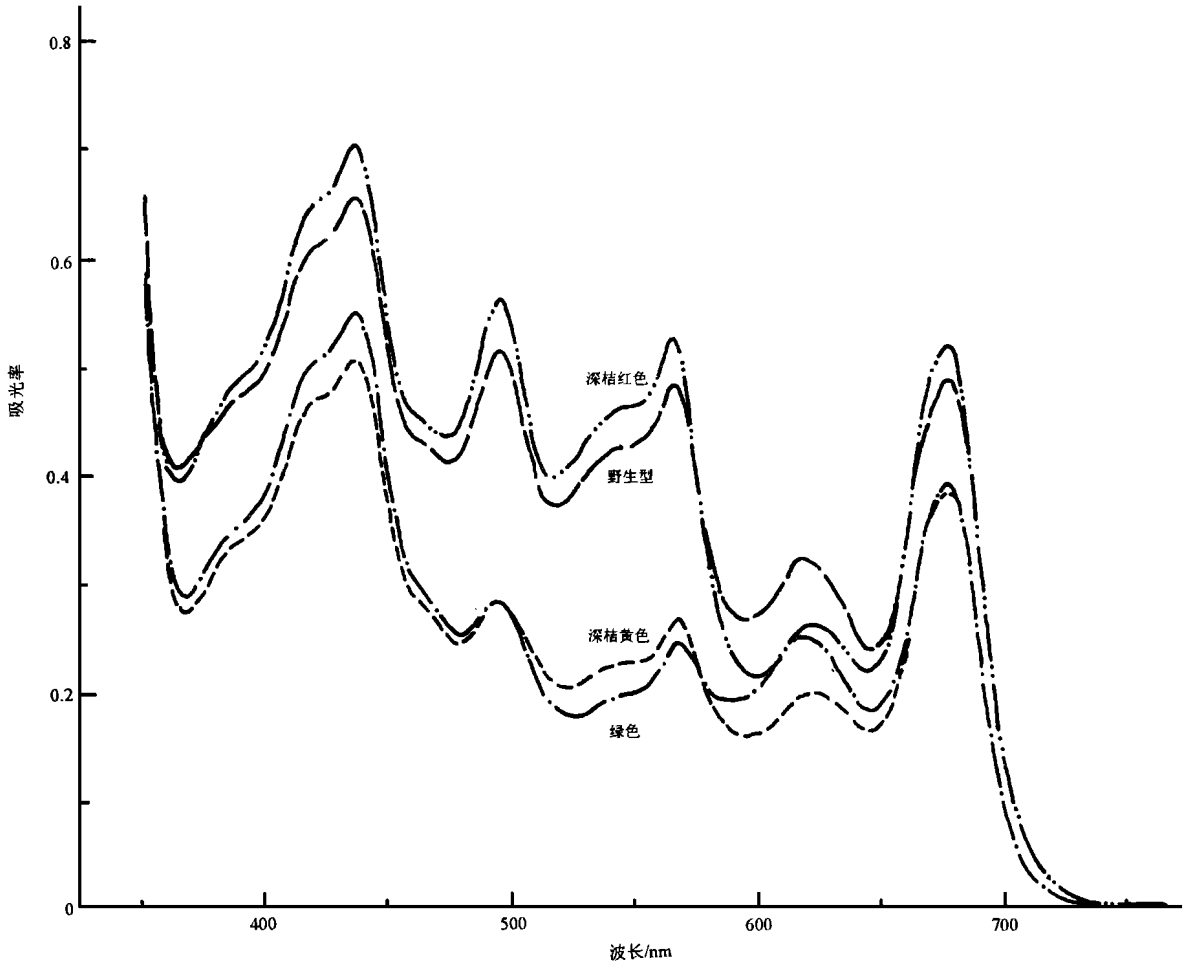


图 2 培养 8 周后条斑紫菜色彩突变体和野生型叶状体的活体吸收光谱

Fig. 2 *In vivo* absorption spectra of gametophytic blades developed from conchospores of mutants (*yel*, *och* and *bus*) and the wild type (*wt*) in *P. yezoensis* after 8 weeks in culture

### 2.3 杂交试验和遗传学分析

条斑紫菜的叶状体属雌雄同体,所以把突变体和野生型叶状体培养在一起进行杂交时,在每片叶状体上同体受精和异体受精可能同时进行,使得每片叶状体上都可能产生纯合和异合的果孢子。但在显微镜下无法把纯合和异合果孢子区分开来,只能待它们萌发成丝状体后,才可根据颜色把纯合和异合丝状体挑出分开培养。如表 1 所示,在 *yel* × *wt* 正反杂交中,来自突变体(*yel*)叶状体的果孢子长成绿色和野生色两种丝状体。由绿色丝状体释放的壳孢子只长成单色的绿色 F<sub>1</sub> 叶状体,证明这绿色丝状体是由于同体受精所产生的纯合丝状体。与此相反,在野生色丝状体的 F<sub>1</sub> 叶状体中,出现了绿色和野生色两

种颜色和两类叶状体, 即单色叶状体以及由绿色和野生色构成的色块镶嵌叶状体, 证明这种野生色丝状体是由于异体受精所产生的异合丝状体。在此杂交中, 来自野生型(*wt*) 叶状体的果孢子只长成野生色丝状体。有些丝状体藻落释放的壳孢子只长成单色野生型  $F_1$  叶状体, 证明它们是由于同体受精所产生的纯合丝状体; 而在另一些丝状体藻落的  $F_1$  叶状体中, 出现了绿色和野生色两种颜色, 既有单色叶状体又有由绿色和野生色构成的色块镶嵌叶状体, 证明这些丝状体是由于异体受精所产生的异合丝状体。来自异合丝状体的  $F_1$  叶状体的种类和颜色分离见表 2。不论母本是突变体(*yel*) 还是野生型(*wt*), 来自异合丝状体的  $F_1$  叶状体中, 都只出现绿色和野生色两种亲本颜色, 以及 2 种单色叶状体和 6 种由绿色和野生色构成的色块镶嵌叶状体。色块镶嵌叶状体的百分比高达 95% 以上。如果以叶状体的颜色块为单位进行统计, 两种颜色在色块镶嵌叶状体中以 1: 1 的比例被分离。而单色叶状体只占极少的比例。

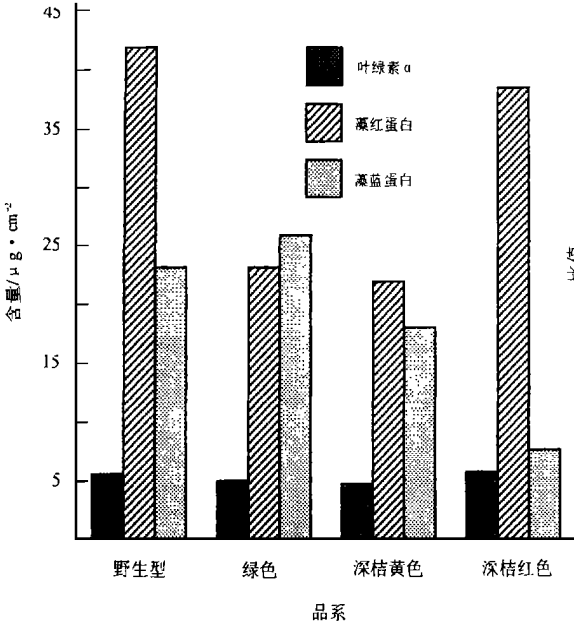


图 3 培养 8 周后条斑紫菜色彩突变体和野生型叶状体的叶绿素 a, 藻红蛋白 (PE) 和藻蓝蛋白 (PC) 含量

Fig. 3 Contents of chlorophyll a, phycoerythrin (PE) and phycocyanin (PC) in gametophytic blades developed from conchospores of mutants (*yel*, *och* and *bus*) and the wild type (*wt*) in *P. yezoensis* after 8 weeks in culture

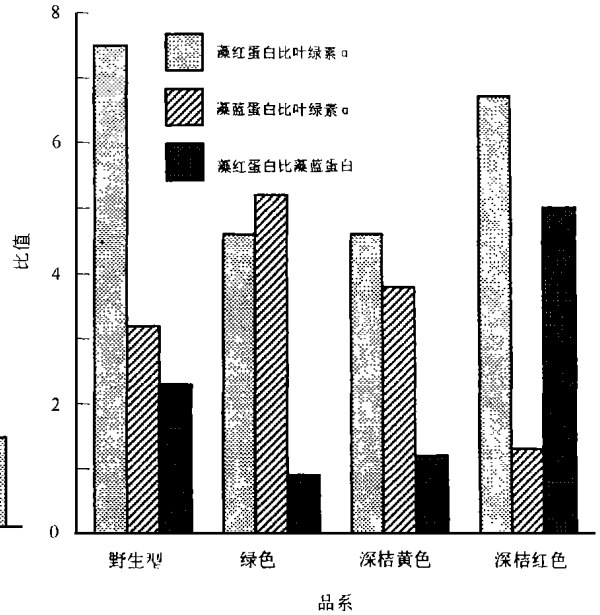


图 4 条斑紫菜色彩突变体和野生型叶状体中叶绿素 a, 藻红蛋白 (PE) 和藻蓝蛋白 (PC) 三者含量相互之比

Fig. 4 PE / Chl.a, PC / Chl.a and PE / PC ratios in gametophytic blades developed from conchospores of mutants (*yel*, *och* and *bus*) and the wild type (*wt*) in *P. yezoensis* after 8 weeks in culture

在 *och* × *wt* 正反杂交中, 来自突变体(*och*) 叶状体的果孢子长成浅桔黄色的纯合丝状体和野生色的异合丝状体; 而来自野生型(*wt*) 叶状体的果孢子只长成野生色的纯合和异合丝状体(表 1)。由异合丝状体所产生的  $F_1$  叶状体的种类和颜色分离状况如表 3 所示。来自异合丝状体的  $F_1$  叶状体中, 都只出现浅桔黄色和野生色两种亲本颜色, 以及 2 种单色叶状体和 6 种由两种亲本颜色构成的色块镶嵌叶状体。色块镶嵌叶状体的百分比高达 96% 以上。两种颜色在色块镶嵌叶状体中以明显的 1: 1 比例被分离。

表1 条斑紫菜色彩突变体(*yel* 和 *och*) 与野生型(*wt*) 正反杂交试验结果  
 Tab.1 Results of reciprocal crosses of *yel* × *wt*, and *och* × *wt* in *Porphyra yezoensis*

杂交配对 (♀ × ♂)	自由丝状体	F <sub>1</sub> 叶状体		杂交组合
		叶状体类型	颜色	
<i>yel</i> (G) × <i>wt</i> (W)	G	—— 单色叶状体	G	<i>yel</i> × <i>yel</i> (self.)
		—— 单色叶状体 —— 色块镶嵌叶状体	W, G	
<i>wt</i> (W) × <i>yel</i> (G)	W	—— 单色叶状体	W	<i>wt</i> × <i>wt</i> (self.)
		—— 单色叶状体 —— 色块镶嵌叶状体	W, G	
<i>och</i> (O) × <i>wt</i> (W)	O	—— 单色叶状体	O	<i>och</i> × <i>och</i> (self.)
		—— 单色叶状体 —— 色块镶嵌叶状体	W, O	
<i>wt</i> (W) × <i>och</i> (O)	W	—— 单色叶状体	W	<i>wt</i> × <i>wt</i> (self.)
		—— 单色叶状体 —— 色块镶嵌叶状体	W, O	

注: W, 野生型(wild-type); G, 绿色(green); O, 浅桔黄色(light yellow orange); self., 自体受精; cross., 异体受精。

表2 条斑紫菜色彩突变体(*yel*) 与野生型(*wt*) 正反杂交试验中由异合丝状体产生的 F<sub>1</sub> 叶状体的类型和颜色分离(W, 野生型; G, 绿色)

Tab.2 Color phenotypes, blade types and color segregation of F<sub>1</sub> gametophytic blades from heterozygous conchocelis in the reciprocal crosses between green mutant (*yel*, G) and the wild type (*wt*, W) in *P. yezoensis* (W, wild type; G, green)

叶状体类型	F <sub>1</sub> 叶状体个数	
	<i>yel</i> ♀ × <i>wt</i> ♂	<i>wt</i> ♀ × <i>yel</i> ♂
单色叶状体		
W	27	43
G	14	25
色块镶嵌叶状体(色块表示顺序是从假根到头部)		
W+ G	455	532
G+ W	422	526
W+ G+ W	135	161
G+ W+ G	122	150
W+ G+ W+ G	7	5
G+ W+ G+ W	2	2
单色叶状体	3.5%	4.7%
色块镶嵌叶状体	96.5%	95.3%
镶嵌叶状体中两种色块分离比	1287W: 1274G	1544W: 1533G

表3 条斑紫菜色彩突变体(*och*) 与野生型(*wt*) 正反杂交试验中由异合丝状体产生的 F<sub>1</sub> 叶状体的类型和颜色分离(W, 野生型; O, 浅桔黄色)

Tab.3 Color phenotypes, blade types and color segregation of F<sub>1</sub> gametophytic blades from heterozygous conchocelis in the reciprocal crosses between light yellow orange mutant (*och*, O) and the wild type (*wt*, W) in *P. yezoensis* (W, wild type; O, light yellow orange)

叶状体类型	F <sub>1</sub> 叶状体个数	
	<i>och</i> ♀ × <i>wt</i> ♂	<i>wt</i> ♀ × <i>och</i> ♂
单色叶状体		
W	28	26
O	7	15
色块镶嵌叶状体(色块表示顺序是从假根到头部)		
W+ O	390	388
O+ W	392	375
W+ O+ W	198	185
O+ W+ O	186	174
W+ O+ W+ O	5	4
O+ W+ O+ W	1	2
单色叶状体	2.9%	3.5%
色块镶嵌叶状体	97.1%	96.5%
镶嵌叶状体中两种色块分离比	1376W: 1364O	1319W: 1308O

### 3 讨论

条斑紫菜原生质体经 MNNG 处理后, 在它们的再生叶状体中, 只出现了点状色彩变异体。而条斑紫菜的壳孢子萌发体(1~ 4 细胞阶段) 经 MNNG 处理后, 出现了三种色彩变异体——单色变异体, 变异细胞和野生色细胞呈块状镶嵌的块状变异体以及变异细胞呈点状不规则地与野生色细胞或其它变异细胞镶嵌在一起的点状变异体(Yan X H, Fujita Y, Aruga Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). 2000)。但条斑紫菜的单孢子萌发体(1~ 16 细胞阶段) 经相同的 MNNG 处理后也只产生点状色彩变异体<sup>[26]</sup>。这说明经 MNNG 诱变处理后所得到的条斑紫菜色彩变异体的种类因被处理材料所处的生活史阶段不同而不同。本实验所获得的点状色彩变

异体多数只含两种不同的细胞,即含一种变异细胞和野生色细胞或含两种变异细胞;但也有极少数的变异体含三种细胞,即含两种变异细胞和野生色细胞。从前一类变异体分离出来的色彩突变体稳定,不变色;而从后一类变异体分离到的色彩突变体色彩不稳定,常常回复成野生色或突变成其它色彩,但一旦回复成野生色就稳定了<sup>[27]</sup>。这种不稳定的突变体在突变方式上与江篱的不稳定色彩突变体<sup>[28]</sup>十分相似。在点状色彩变异体的单孢子萌发体中,出现了单色叶状体和跟母体非常相似的点状变异体。将出现点状变异体再次分离出来进行单个培养,不久又获得了单孢子。在单孢子萌发体中又出现了单色叶状体和跟母体非常相似的点状变异体。用相同的方法连续四次单离培养结果,点状色彩变异体的单孢子萌发体中仍然出现了跟母体非常相似的点状色彩变异体。这种点状色彩变异体到底是由于什么样的变异所致还有待进一步研究。

本文报道的三种色彩突变体的突变主要导致了藻红蛋白和藻蓝蛋白的质或量发生了变化,而并未使叶绿素 $\alpha$ 发生明显的变化。突变体 *yel* 主要是由于藻红蛋白的量明显比野生型低所致。突变体 *och* 和 *bus* 的变异不仅使藻红蛋白或藻蓝蛋白的含量明显降低,也使藻蓝蛋白的性质发生了变化,因为不仅它们的叶状体活体吸收光谱的  $P_4$  峰顶向长波方向移动了约 3nm,而且,从它们分离出来的藻蓝蛋白的光谱吸收峰也出现了类似的移动。条斑紫菜的自然色彩突变体如绿色型(*C-0*)也主要是由于藻红蛋白的含量大幅度降低所致;而红色型(*R-25*, *C-22*)和桔色型(*NO-1*)则主要是由于藻红蛋白和藻蓝蛋白的质和量发生变化所致<sup>[7,10]</sup>。

条斑紫菜壳孢子萌发时的最初二次分裂被证明为是减数分裂,并且随后产生了类似于脉胞菌(*Neurospora*)四分体的四细胞体<sup>[11,12]</sup>。当含有一个与色彩有关的变异基因的自然色彩突变体与野生型杂交时,由异合丝状体产生的  $F_1$  叶状体中出现了两种亲本颜色,以及单色叶状体和由两种亲本颜色构成的色块镶嵌叶状体;色块镶嵌叶状体的每个色块起源于减数分裂产生的四细胞体的不同细胞<sup>[29]</sup>。在突变体 *yel* 或 *och* 与野生型的正反杂交实验中,得到的异合丝状体色彩都呈野生色,这说明两个突变体中与色彩有关的基因变异相对野生型来讲属隐性变异。由异合丝状体产生的  $F_1$  叶状体中,出现了两种亲本颜色以及单色叶状体和色块镶嵌叶状体,证明两个突变体的色彩变化均只由于一个突变基因所致;两种颜色在色块镶嵌叶状体中以 1:1 的比例被分离,说明突变基因符合孟德尔的隐性基因分离定律。但是,用 MNNG 处理( $20\sim 25\times 10^{-6}$ , 180min)条斑紫菜的壳孢子萌发体和单孢子萌发体所得的色彩突变体中,数个突变体经杂交试验证明均含二个或二个以上的与色彩有关的变异(Yan X H, Aruga Y. Genetic analysis of artificial pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda(Bangiales, Rhodophyta). 2000)。MNNG 处理时间过长(如 180min)可能是导致多个变异同时产生的主要原因,这个问题值得进一步研究。

来自异合丝状体的  $F_1$  叶状体中,由 2 个色块构成的色块镶嵌叶状体是由于突变体跟色彩有关的变异基因与着丝粒之间未发生交换在减数分裂的第一次分裂分离所产生的;而由 3~4 个色块构成的色块镶嵌叶状体则是由于有关的变异基因与着丝粒之间发生交换并且在减数分裂的第二次分裂分离所产生的。另外,由异合丝状体产生的单色  $F_1$  叶状体因为大多数在叶状体的基部或在最顶部含一个异色细胞,或在最顶部含一个或几个死细胞,所以,它们被认为是由于在减数分裂的第一次分裂分离产生的四细胞体的不完全发育所造成的。据着丝粒距离定义<sup>[30]</sup>,得出下列着丝粒距离计算公式:

着丝粒距离= 第二次分裂分离  $F_1$  色块镶嵌叶状体数  $\div$   $F_1$  叶状体总数  $\times 0.5 \times 100$ (图距单位)。

当母本分别为突变体和野生型时,根据表 2 和表 3 的数据,得 *yel* 的着丝粒距离分别为 12.0 和 11.0 图距单位,其平均值为 11.5 图距单位;而 *och* 的着丝粒距离分别为 16.2 和 15.5 图距单位,其平均值为 15.8 图距单位。绿色突变体 *yel* 比条斑紫菜的自然绿色突变体(*C-0*)更绿,而且 *C-0* 的着丝粒距离为 15.8 图距单位<sup>[12]</sup>。所以 *yel* 可以被认为是不同于与 *C-0*。突变体 *och* 在色彩,叶状体活体吸收光谱和主要光合色素含量等方面完全不同于条斑紫菜的自然桔色突变体(*NO-1*)<sup>[10]</sup>。突变体 *bus* 的基因遗传分析有待进行。

## 参考文献:

- [1] 有賀祐勝. 養殖海苔の色調[J]. 私達の海苔研究, 1975, 23: 1~13.
- [2] 有賀祐勝. スサビノリの色調と色素[J]. 遺伝, 1980, 34(9): 8~13.
- [3] 齊藤宗勝, 荒木 繁, 井武磨ら. 乾海苔における光合成色素含有量および全窒素, 全遊離アミノ酸, 全糖含有量の時期的変動と産地間の相違[J]. 日本水産学会誌, 1975, 41(3): 365~370.
- [4] 高原隆明, 三浦昭雄, 有賀祐勝. スサビノリの緑色突然変異体の培養実験[J]. うみ, 1976, 14: 101~117.
- [5] 三浦昭雄. ノリの育種[J]. 海洋科学, 1976, 8: 447~454.
- [6] 三浦昭雄. ノリの色調変異体と色素の遺伝[J]. 遺伝, 1978, 32(8): 11~16.
- [7] Aruga Y, Miura A. *In vivo* absorption spectra and pigment contents of the two types of color mutants of *Porphyra*[J]. Jap J Phycol, 1984, 32: 243~250.
- [8] Mirill J E, Mimuro M, Aruga Y, et al. Light harvesting for photosynthesis in four strains of the red alga *Porphyra yezoensis* having different phycobilin contents[J]. Plant Cell Physiol, 1983, 24: 261~266.
- [9] Miura A. Genetic analysis of the variant color types of light red, light green and light yellow phenotypes of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta, Bangiaceae)[M]. In: Hara H. (Ed). Origin and evolution of diversity in plants and communities. Academic Scientific Book, Tokyo. 1985, 270~284.
- [10] Niwa K, Miura A, Shin J A, et al. Characterization and genetic analysis of the violet type pigmentation mutant of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Korean J Phycol, 1993, 8: 217~230.
- [11] Ohme M, Miura A. Tetrad analysis in conchospore germlings of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta, Bangiales)[J]. Plant Sci, 1998, 57: 135~140.
- [12] Ohme M, KuniFuji Y, Miura A. Cross experiments of the color mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda[J]. Jap J Phycol, 1986, 34: 101~106.
- [13] 片山勝介. 養殖ノリの変異種に関する研究—I. 化学変異剤の施使について[J]. 岡山水試事報, 1983, 57: 51~56.
- [14] 片山勝介. 養殖ノリの変異種に関する研究—II. 二, 三の化学物質による変異[J]. 岡山水試事報, 1984, 58: 43~49.
- [15] Xu P, Fei X G, Zhu J Y. Induction of pigment mutants in red algae *Porphyra*[C]. Abstracts 5th Int Phycol Cong, June/July 1994. Qingdao, China. 1994, 45.
- [16] Yan X H. Studies on color type variants from mutagenized protoplasts of *Porphyra hatianensis* Chang et Zheng & *P. yezoensis* Ueda (Rhodophyceae)[J]. Chin J Oceanol Limnol, 1993, 11: 235~244.
- [17] Yan X H, Liu Z S. Selection of variants from protoplast cultures in *Porphyra yezoensis* Ueda (Rhodophyta)[J]. Mar Sci, 1992, 4: 262~271.
- [18] van der Meer J P. Using genetic marks in phylogenetic research[J]. Hydrobiol, 1987, 151/152: 49~56.
- [19] Mitman G G, van der Meer J P. Meiosis, blade development and sex determination in *Porphyra purpurea* (Rhodophyta)[J]. J Phycol, 1994, 30: 147~159.
- [20] Yan X H, Aruga Y. Induction of pigmentation mutants by treatment of monospore germlings with NNG in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Algae, 1997, 12: 39~54.
- [21] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. Jap J Phycol, 1984, 32: 334~347.
- [22] Provasoli L. Media and prospects for the cultivation[M]. In: Watanabe A, Hattori A. (Eds.), Culture and collections of algae. Proc. U. S. - Japan Conf. Hakone, Sept. 1966. Jap Soc Plant Physiol, 1966. 63~75.
- [23] Liu W S, Tang Y L, Liu X W, et al. Studies on the preparation and the properties of sea snail enzymes[J]. Hydrobiol, 1984, 116/117: 319~320.
- [24] Yan X H, Wang S J. Studies on development and differentiation of somatic cells in *Porphyra* sp[J]. Mar Sci, 1990, 3: 195~208.
- [25] 和田三造. 色名大辞典[M]. 東京: 創元社, 1954. 1~139.
- [26] Yan X H. Induction, isolation and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Ph. D. thesis, Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japan. 1997, 101 + 42 Tables + 217 Figs.
- [27] Yan X H, Aruga Y. Unstable pigmentation mutants obtained by NNG treatment in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Jap J Phycol, 1998, 46: 89.
- [28] van der Meer J P, Zhang X C. Similar unstable mutations in three species of *Gracilaria* (Rhodophyta)[J]. J Phycol, 1998, 24: 198~202.
- [29] 大目 優. スサビノリの遺伝学. 胞子の発芽時に起こる減数分裂[J]. 海洋科学, 1989, 21: 350~354.
- [30] 盛祖嘉. 微生物遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 149~168.