

文章编号:1000-0615(2008)03-0327-08

坛紫菜诱变育种的初步研究

陈昌生, 徐燕, 谢潮添, 纪德华, 柳佩娟, 梁艳, 王凤霞, 史修周

(集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

摘要:近十几年来,坛紫菜品种退化、产量降低、质量下降,本实验通过诱变处理,筛选和培育优质高产的坛紫菜新品系。坛紫菜野生丝状体经一定剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照后,子代叶状体发生了变异,经大量培养后筛选出紫色突变体(3号Ⅰ)和经济性状优良的个体(7号Ⅰ和7号Ⅱ),通过体细胞酶解和单克隆技术快速获得诱变选育纯系,并对其主要经济性状进行了研究。其主要特征:①7号Ⅰ:叶片宽 $[(2.99 \pm 0.61) \text{ cm}]$ 、生长快(30 cm以上的藻体长度平均日增长量可达6.51 cm,比对照组快55.3%)、耐高温(29°C 正常生长,比对照组高 2°C 以上)、总藻胆蛋白含量高($104.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干品,比对照组高39.0%);②7号Ⅱ:藻体窄、生长快(30 cm以上的藻体长度平均日增长量可达4.26 cm,比对照组快58.7%)、叶片薄(藻体中部厚度仅为 $22.5 \sim 27.5 \mu\text{m}$,比对照组薄29.6%)、总藻胆蛋白含量高达 $104.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干品,比对照组高39.4%);③3号Ⅰ:藻体紫色,叶片薄,藻体中部厚 $25.0 \sim 32.5 \mu\text{m}$;④7号Ⅰ和7号Ⅱ在生产上应用,产量分别达 $309.6 \text{ kg} \cdot 666.6 \text{ m}^{-2}$ 和 $291.5 \text{ kg} \cdot 666.6 \text{ m}^{-2}$,比对照组高37%和29%。

关键词:坛紫菜;诱变;育种;新品系

中图分类号:S 917.3

文献标识码:A

诱变育种是利用物理的或化学的方法对海藻进行处理,使其发生突变而产生新品种的育种技术^[1]。诱变可以增加变异率,打破旧连锁及进行染色体片断的位移,提高育种效率,在农作物和海藻育种中广泛运用。常用的物理诱变剂有 γ 射线、X射线、紫外线等,常用的化学诱变剂有秋水仙素、甲基磺酸乙酯(EMS)、亚硝基胍(NG)等。在紫菜育种中最常用、诱变效果较好的是 γ 射线和亚硝基胍^[2-5]。

紫菜诱变最初是以育种和改良栽培种质为目的。今田克^[6]用秋水仙素对栽培紫菜进行了诱变实验,但尚未见过有关选育的报道;Katayama^[7]使用多种化学诱变剂对条斑紫菜和甘紫菜进行诱变研究,诱导出了红色和绿色突变体,但尚未筛选出应用于生产的品系;匡梅等^[8]报道了 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对坛紫菜和条斑紫菜的诱变

作用,描述了 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线使紫菜产生多种形态变异体、色素变异体和生长生理特殊的变异体等,尚未通过人工诱变筛选出新品系在生产上得到应用。本研究主要通过对坛紫菜丝状体的诱变,在实验室连续筛选并在生产上应用,成功培育出3个新品系。

1 材料与方法

1.1 诱变实验材料及培养

取自集美大学坛紫菜种质改良与应用实验室的野生品系丝状体,置于250 mL广口瓶中,在 $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温室里培养。

1.2 不同剂量辐照和培养实验

将野生坛紫菜丝状体分别置于5 mL的塑料管中,按照所设定的剂量(100 Gy、200 Gy、300 Gy、500 Gy、700 Gy)用 γ 射线进行第1次辐照

收稿日期:2007-05-17

资助项目:国家海洋“八六三”项目(2006AA10A413);国家自然科学基金项目(40676077);福建省科技重大专项项目(2005NZ1025)

作者简介:陈昌生(1957-),男,福建平潭人,教授,主要从事海藻与遗传育种的研究。E-mail: cschen@jmu.edu.cn

后,分别筛选变异的藻体进行单独培养,其余部分继续进行第2次辐照(300 Gy、500 Gy、700 Gy、900 Gy、1100 Gy)和第3次辐照(300 Gy、600 Gy、900 Gy、1200 Gy、1500 Gy),继续筛选形态和色泽变异的丝状体单独培养。然后用组织粉碎机将筛选的丝状体切成150~300 μm 碎段,置于培养皿中培养。培养条件:温度20~24 $^{\circ}\text{C}$ 、光强500~1000 lx,24 h光照,每周换1次培养液。从大量实验中挑选出2个生长较快的藻落Ⅲ₇₀₀(野生品系Ⅲ丝状体经1次700 Gy辐照诱变)和³Ⅲ₃₀₀(野生品系Ⅲ丝状体经3次300 Gy辐照诱变)。

1.3 诱变丝状体 F₁ 叶状体的获得

取上述切碎的丝状体,接种于干净消毒的贝壳上,进行丝状体的贝壳移植和培养(条件同上)。当藻丝钻入贝壳后,去除贝壳表面多余的丝状体,将贝壳移至温度28~29 $^{\circ}\text{C}$ 、光强600~800 lx、光周期8 L:16 D的恒温光照培养箱中培养。当贝壳表面藻体出现孢子囊枝时,进行壳孢子放散。培养7~10 d,当容器底部的壳孢子长出一层幼苗时,用毛笔将幼苗刷下进行培养。

1.4 F₁ 叶状体的培养和选育

挑选藻落Ⅲ₇₀₀和³Ⅲ₃₀₀ 3~5 cm的苗种各150株,分别单株置于500 mL的锥形瓶中充气培养,每5天观察、更换培养液和测量其长、宽和鲜重。培养条件:温度(21±1) $^{\circ}\text{C}$ 、光强2000~3000 lx,光周期12 L:12 D。培养过程中每天观察藻体的生长、发育及颜色变化等,并从³Ⅲ₃₀₀叶状体中筛选出2株色泽鲜艳、生长快速、不易成熟的叶状体7号Ⅰ和7号Ⅱ,从Ⅲ₇₀₀叶状体中挑选出1株生长快速的野生色叶状体7号Ⅲ,1株紫色叶状体3号Ⅰ。

1.5 F₁ 叶状体单克隆及 F₂ 叶状体的获得

将4株诱变选育叶状体分别用海螺酶酶解(酶解方法见参考文献[9]),获得单克隆叶状体,通过单性繁殖获得丝状体。4种丝状体经过促熟和通过壳孢子放散得到诱变选育 F₂ 叶状体。

1.6 子代叶状体的耐高温实验

温度实验设5个梯度:26、27、28、29、30 $^{\circ}\text{C}$,每个梯度设4个平行组。分别挑选4个诱变品系100株、长3~5 cm的健康、完整藻体,每20株为1个平行组,分别培养于上述温度的光照培养

箱。实验条件:光周期12 D:12 L,光强1000~1200 lx。然后每天观察记录叶状体健康状况,5 d测量一次长度、宽度和鲜重,并更换培养液。

1.7 数据分析与处理

生长计算公式和数据处理方法参考文献[10]。

2 结果

2.1 γ 射线辐照对坛紫菜丝状体、叶状体存活与变异的影响

坛紫菜丝状体经 γ 射线辐照后具有正常的萌发和生长能力,其成活率与辐照剂量有一定的关系。剂量越大,丝状体的成活率越低,当剂量达到500 Gy以上时,50%以上的丝状体无法存活。 γ 射线辐照后的丝状体经一段时间培养发生色素变异,但数量极少。经一次辐照后的坛紫菜丝状体的抗 γ 射线辐照能力有所增强,与第1次辐照的丝状体成活率相比,第2次和第3次相同剂量辐照的丝状体成活率提高,即使辐照剂量达到900 Gy,仍有一半以上的藻丝存活,并有少量出现色泽的变异。

γ 射线辐照对叶状体存活影响较大。经高剂量(900 Gy以上)辐照后的叶状体死亡率较高,藻体局部出现粉红色的斑块,斑块内大部分是死亡的细胞。剂量越大辐照时间越长,斑块越大,死亡细胞越多,尤其是1100 Gy以上实验组。从1~3次辐照的次数和辐照的剂量来看,辐照剂量大于1100 Gy,产生诱变的丝状体和叶状体就很少。在辐照丝状体的培养观察过程中,筛选和获得了两个生长快速、色泽鲜艳的藻落Ⅲ₇₀₀和³Ⅲ₃₀₀。

2.2 诱变选育的新品系的形态特征

诱变选育出4种具有生长优势或色泽特殊的个体,暂名为:7号Ⅰ(图版-1)、7号Ⅱ(图版-2)、7号Ⅲ(图版-3)和3号Ⅰ(图版-4),其主要特征如下。

7号Ⅰ:藻体呈披针形,棕红色(图版-1);成体叶片长140~220 cm,最长300 cm,宽1.8~3.5 cm,最宽的可达4.5 cm,长宽比约为35:1;基部呈脐形;藻体边缘无锯齿(图版-5);随着叶片长度的增长,厚度逐渐增加,基部可达40.0~50.0 μm ,但中部增加幅度不明显,一般长度1 m的藻体中部厚度为22.5~32.5 μm ,2 m以上长的藻体中部厚度为27.5~35.0 μm ,胶质膜厚

2.5~10.00 μm ; 叶片成熟时间晚,成熟后全为雄性。

7 号 II:藻体线形披针,基部圆形,少数为脐形(图版-2);颜色偏鲜红色,大多基部边缘红中间透绿,绿色部分约占全长的 1/3~1/2,极少数全红;锯齿较小;成体叶片长 45.0~179.6 cm,宽 0.4~1.5 cm,平均长宽比约为 58:1,厚 22.5~27.5 μm ,胶质膜厚 2.50~7.5 μm (图版-7);易形成精子囊器。

7 号 III:藻体呈披针形(图版-3),基部圆形或楔形;基部呈绿色,随着藻体的伸展,逐渐变为红色,绿色部分约占整株藻体的 1/5~1/3;锯齿很小(图版-6);成体叶片长 80~130 cm,宽 0.7~2.0 cm,平均长宽比约为 40:1,厚 30.0~45.0 μm ,胶质膜厚 3.75~8.25 μm (图版-8);藻体全为雌性,不易腐烂。

3 号 I:藻体为紫色,呈披针形(图版-4),基部圆形,呈紫绿色,约占全长的 1/6~1/4;成体叶片长 25.0~87.5 cm,宽 0.5~0.8 cm,厚 25.0~32.5 μm ,胶质膜厚 1.25~7.50 μm ;藻体中部和基部有小而密的锯齿;藻体全为雌性。

表 1 坛紫菜诱变品系叶状体形态特征
Tab. 1 The formal characteristic of *P. haitanensis* mutagenic strains

品系 strain	色泽 color	叶片形状 shape	叶片基部形状 shape of basal portion	长度(cm) length	宽度(cm) width	厚度(μm) thickness	锯齿数量、大小 quantity and size of sawtooth	精子囊器形成部位 part of sperm sac
7-I	红褐色 henna	披针形 lanceo-lat	心脏形 cordate	140.0~220.0	1.8~3.5	22.5~35.0	无 none	中部和尖端 middle and top
7-II	红绿色 red-green	线状披针 linear lanceo-late	圆形 circular	45.0~179.6	0.4~1.5	22.5~27.5	较多,很小 many, wee	尖端 top
7-III	野生色 wild-color	披针形 lanceo-lat	圆形 circular	80.0~130.0	0.7~2.0	30.0~45.0	较多,很小 many, wee	无 none
3-I	紫色 purple	线形披针 linear lanceo-late	圆形 circular	25.0~87.5	0.5~0.8	25.0~32.5	较多,很小 many, wee	尖端 top

2.3 诱变品系 F₂ 叶状体的经济性状

生长速度 与野生型(对照组)相比,诱变品系生长迅速,不易形成生殖器官和腐烂,养殖周期长。2 号野生型对照组培养 15 d 后大多数形成精子囊器,停止生长,甚至腐烂,诱变品系在 20 d 里保持较快生长,7 号 I 则可培养 40 d 以上不腐烂。7 号 I、7 号 II 和 7 号 III 长度生长差异显著($P<0.05$)。7 号 I 和 7 号 II 的 3~5 cm 幼苗经 16~20 d 培养,生长优势凸显,藻体长度分别可达(104.09 $\pm$ 17.21) cm 和(156.37 $\pm$ 16.53) cm;7 号 III 叶片尖端逐渐开始发黄,出现烂斑,生长减慢,16~20 d 的平均日增长量仅有(4.97 $\pm$ 1.40) cm。未形成精子囊器的 3 号 I 藻体生长快速,3~5 cm 幼苗培养 20 d 时藻体长度为(83.21 $\pm$ 2.24) cm(表 2)。

表 2 21 $^{\circ}\text{C}$ 时坛紫菜诱变品系 F₂ 叶状体长度生长情况

Tab. 2 Growth of F ₂ gametophytic blades of <i>P. haitanensis</i> mutagenic strains at 21 $^{\circ}\text{C}$					$\bar{X}\pm\text{SD}, \text{cm}$
培养时间(d) culture days	7-I	7-II	7-III	3-I	2 号
1	4.33 $\pm$ 0.75 ^a	4.12 $\pm$ 0.89 ^a	4.42 $\pm$ 0.62 ^a	3.79 $\pm$ 0.59 ^a	4.20 $\pm$ 0.55 ^a
5	11.25 $\pm$ 1.87 ^a	12.54 $\pm$ 2.65 ^b	14.22 $\pm$ 2.32 ^c	8.48 $\pm$ 1.07 ^d	11.82 $\pm$ 1.66 ^{ab}
10	35.75 $\pm$ 4.23 ^a	36.54 $\pm$ 8.76 ^a	36.30 $\pm$ 6.28 ^a	22.95 $\pm$ 2.77 ^b	23.02 $\pm$ 3.94 ^b
15	68.31 $\pm$ 7.69 ^a	69.79 $\pm$ 13.39 ^a	61.35 $\pm$ 8.30 ^a	44.54 $\pm$ 4.61 ^b	37.02 $\pm$ 7.13 ^b
20	104.09 $\pm$ 17.21 ^a	156.37 $\pm$ 16.53 ^b	86.51 $\pm$ 12.88 ^c	83.21 $\pm$ 2.24 ^c	—

注:在同一行中不具有相同字母上标的均值差异显著($P<0.05$)。—表示叶片完全成熟或腐烂,未测数据
Notes: Mean value of the twenty replicates. The different superscripts denote significant differences between two mean values in the same row. — indicates the blades were mature and rotted completely

经过 20 d 培养,4 个诱变品系中 7 号 I 重量生长最快,3 号 I 最慢,在前期培养的 15 d 内 7 号 I 和 7 号 III 重量差异不明显,生长曲线几乎重叠。15 d 后,7 号 I 藻体生长优势凸显,增重迅速。3 号 I 在生长初期重量生长曲线平缓,小于野生型 2 号品系,但后期长度的快速生长使得藻体重量快速增加(图 1)。

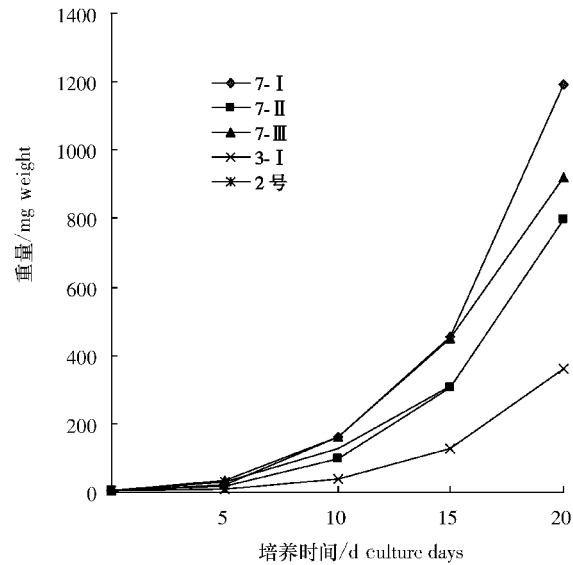


图 1 诱变品系 F₂ 叶状体重量生长曲线
Fig.1 Weight curve of F₂ gametophytic blades of mutagenic strains

F₂ 叶状体藻胆蛋白、叶绿素及蛋白质的含量诱变品系藻红蛋白和总藻胆蛋白含量明显高于野生型对照组。7 号 I 和 7 号 II 叶绿素含量分别比野生对照品系高 25.81 % 和 35.26 %;3 号 I 叶绿素含量远低于野生品系,只有 (2.94 ± 0.05) mg · g⁻¹干品(表 3)。

表 3 诱变品系 F₂ 叶状体主要藻胆蛋白和叶绿素的含量

Tab. 3 Contents of phycobiliprotein and Chl. a in F₂ gametophytic blades of mutagenic strains

样品 sample	$\bar{X} \pm SD$ mg · g ⁻¹ of dry sample				
	藻红蛋白 RPE	藻蓝蛋白 RPC	别藻蓝蛋白 APC	叶绿素 a Chl. a	总藻胆蛋白 total phycobiliprotein
7-I	72.691 ± 5.887 ^a	20.007 ± 1.028 ^a	12.160 ± 0.467 ^a	8.432 ± 0.268 ^a	104.858 ± 7.376 ^a
7-II	71.343 ± 4.694 ^a	20.934 ± 0.406 ^b	11.960 ± 0.141 ^a	9.065 ± 0.201 ^b	104.239 ± 5.064 ^a
7-III	47.681 ± 1.178 ^b	22.876 ± 0.872 ^c	13.279 ± 0.590 ^b	6.991 ± 0.261 ^c	83.836 ± 2.457 ^b
3-I	52.910 ± 4.854 ^c	23.112 ± 0.351 ^c	15.001 ± 0.362 ^c	2.943 ± 0.053 ^d	91.023 ± 4.874 ^c
2	39.141 ± 0.780 ^d	22.751 ± 0.655 ^c	13.102 ± 0.426 ^b	6.702 ± 0.176 ^c	74.994 ± 1.858 ^d

注:在同一列中不具有相同字母上标的均值差异显著(P<0.05)
Notes: The different superscripts denote significant differences between two mean values in the same column(P<0.05)

高温对 F₂ 叶状体生长、存活的影响 品系 7 号 I 耐高温能力强,比 2 号对照组高 2~3 °C,在 29 °C 培养 6 d 藻体尖端开始出现针尖状的烂点,但藻体还能继续生长,高温培养 10 d 后移入 21 °C 培养液中继续充气培养,藻体色泽第 3 天就可以恢复正常;30 °C 下培养 4 d 不出现烂斑。7 号 II 耐高温能力较 7 号 I 差,在 26 °C、27 °C 下培养,藻体不出现腐烂,但 28 °C 培养 8 d,藻体尖端开始出现烂点;在 29、30 °C 各培养 2~3 d 就出现烂点。7 号 III 耐高温能力较弱,在 27、28 °C 培养 8~9 d 后藻体基部固着器附近开始形成烂点。3 号 I 是诱变品系中耐高温较差的品系,26 °C 培养 10 d 就会形成烂斑。

F₁ 和 F₂ 叶状体经济性状的比较 7 号 I 具有叶片宽,晚成熟,生长快,产量高的特点,其 F₂ 叶状体平均宽(2.99 ± 0.61) cm,3~5 cm 长的藻体培养 20 d 藻体鲜重可达(1.19 ± 0.20) g。7 号 I F₁ 和 F₂ 宽度差异显著(P<0.05),但生长中后期长度和重量生长差异不显著(P>0.05)。7 号 II 的 F₁ 酶解后的单细胞大部分发育成细胞团和畸形苗,少部分形成丝状体,无正常叶片生成。7 号 II 叶片窄而薄,长度生长快速[最快可达(11.97 ± 0.65) cm · d⁻¹],但鲜重生长不明显,培养 10 d 鲜重是 2 号品系的 77.66 %。7 号 III F₁ 长度生长速度比 F₂ 快,平均日增长率差异显著(P<0.05),但由于 F₁ 叶片宽度[成体叶片宽(0.86 ± 0.15) cm]小于 F₂ 叶状体[成体叶片宽(1.5 ± 0.20) cm],培养 10 d 的平均鲜重只有 F₂ 代的 0.66 倍。3 号 I F₂ 叶状体最小和最大成熟个体都比 F₁ 大,长度和重量生长明显快于 F₁(表 4)。

表 4 诱变品系 F₁ 和 F₂ 叶状体经济性状比较
Tab. 4 Comparison of economic characters on F₁ and F₂ gametophytic blades of mutagenic strains

品系 strain		最小雄性 个体(cm) min male	最小雌性 个体(cm) min female	最大雄性 个体(cm) max male	最大雌性 个体(cm) max female	30 cm 时平 均宽度(cm) average width of 30 cm	成体时的平 均宽度(cm) adult width	培养 10 d 后平均 鲜重(g) average fresh weight of 10 d	培养 20 d 后平均 鲜重(g) average fresh weight of 20 d
7-I	F ₁	26.5	60.0	145.0	180.0	1.0±0.15*	2.2±0.3*	0.16±0.03*	0.99±0.15
	F ₂	40.0	65.0	220.0	250.2	1.2±0.3*	3.0±0.6*	0.19±0.04*	1.19±0.20
7-II	F ₂	30.5	46.5	200.6	241.5	0.7±0.4	0.8±0.2	0.10±0.02	0.36±0.01
7-III	F ₁		17.9		104.6	0.5±0.1*	0.9±0.2*	0.11*±0.03	
	F ₂		35.2		144.5	0.9±0.2*	1.5±0.2*	0.17±0.04*	0.92±0.18
3-I	F ₁	2.5		43.9		0.6±0.1	0.6±0.1*	0.03±0.01*	
	F ₂	21.8		83.4		0.6±0.1	0.8±0.1*	0.04±0.01*	
2		6.4	11.0	15.2	54.6	1.0±0.2	1.3±0.2	0.13±0.03	

注: * 表示同一品系间 F₁ 和 F₂ 差异显著(P<0.05)
Notes: * means significant differences between F₁ and F₂ gametophytic of mutant strains

诱变品系在生产上的应用 选育的 7 号 I 和 7 号 II 品系已经在生产上得到应用,2006 年 7 号 I 和 7 号 II 品系产量分别达 309.6 kg·666.6m⁻²和 291.5 kg·666.6m⁻²,分别比对照组高 37% 和 29%(对照组产量为 226.0 kg·666.6m⁻²),而且 7 号 I 的色泽明显优于对照组,市售价格高出 17%~20%;7 号 II 藻体薄,适合于加工成即食菜饼,市场前景看好。

3 讨论

3.1 ⁶⁰Co γ-射线对坛紫菜丝状体的诱变作用

关于紫菜的品种改良,国内外学者利用各种方法开展了诱变育种的研究^[4-6],γ 射线辐照就是其中较为有效的一种。γ 射线具有很强的穿透能力和诱变效应,在植物育种研究上有成功的报导^[11-12]。它可以对 DNA 分子、mRNA 分子、脱氧核糖蛋白、膜或其它基团作用,使 DNA 分子碱基对转换和颠换,DNA 化学键破坏等,从而导致变异产生^[13]。以往的藻类学者大多以紫菜的叶状体为诱变材料,因为叶状体辐照后比较容易得到突变体,但雌雄异体的坛紫菜叶状体,它的某些优良性状难以通过自体受精,因而就不易获得双倍体的纯种丝状体,给优良性状的种质保存带来困难。本实验主要以丝状体作为诱变材料,虽然其诱变效应在丝状体成熟、长成叶状体后才能表现出来,但丝状体诱变操作简单、方便,丝状体比叶状体稳定,优良性状易于保存,同时丝状体诱变可以进行双重选择,提高了诱变后的筛选效

率。因此,可以挑选生长迅速的单一藻段培养,然后通过各种生态条件进行促熟和筛选。丝状体成熟放散出壳孢子后,在叶状体阶段又可进一步筛选,更易获得具有优良性状的新品系。

3.2 诱变品系效果及优势分析

4 个诱变品系坛紫菜在形态和经济性状等方面表现不一。7 号 I 的推广应用价值最高,具有 3 大凸显的优势:第一,生长迅速,产量高,且晚成熟。7 号 I 号属于晚熟型的藻体,即使形成生殖器官对生长影响也不明显。实验培养过程中,经常发现尚未形成精子囊器或晚熟型的藻体,生长特别迅速,叶片长度可达 2 m 多。相比之下,在相同的室内条件下培养的对照组,叶片长度为 10 cm 时,雄性藻体就开始形成精子囊器,若继续培养,藻体将逐渐烂掉。7 号 I 藻体生长迅速可能与藻胆蛋白和叶绿素含量有关。众所周知,叶绿体是进行光合作用的场所,藻胆蛋白作为光合作用的天线色素存在于叶绿体中。藻红蛋白在红藻的捕光系统中首先捕获光量子,然后依次传递给藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白,最后到达叶绿素 a^[14]。由表 3 可知,7 号 I 具有较高含量的藻红蛋白和叶绿素,使其可以捕获大量的光能,传递给叶绿素 a,进行光合作用,支撑快速生长。第二,4 种色素含量高。紫菜蛋白质含量以及藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白和叶绿素含量的高低是决定紫菜品质好坏的一个重要因素^[15-18]。7 号 I 叶绿素和 3 种藻胆蛋白含量比对照组高 39.8%。第三,耐高温。坛紫菜属于暖温性海藻,自然海区壳孢子萌发与孢苗萌发生长

的最适温度为 24~26℃,从肉眼可见苗到 5 cm 左右苗的生长适温为 23~25℃,水温高于 27℃,叶片生长停滞,出现腐烂^[19]。7 号 I 对高温耐受能力较强,在 29~30℃海水中培养 4~6 d 不腐烂。7 号 I 之所以耐高温,其原因可能有两种:一是由于辐射使其产生耐高温的基因,二是丝状体经过多次高温筛选,淘汰了对温度敏感的藻丝,使耐高温的丝状体得以生存。

7 号 II 藻体薄,叶片中部的厚度为 22.5~27.5 μm,比野生坛紫菜薄 1/3 以上,与条斑紫菜相当,加之其较耐高温,长度生长快,总藻胆蛋白含量高达(104.24±5.06) mg·g⁻¹干品,适合于加工成藻体薄和品质高的出口型坛紫菜。7 号 III 虽生长较快,但不耐高温,27℃长时间培养容易腐烂,而且腐烂时先从基部固着器开始,容易造成藻体脱苗,不适合推广,应继续选育改进。3 号 I 藻体呈紫色,藻体薄,厚度 22.5~32.5 μm,不耐高温,26℃培养时容易出现烂点;虽不适合推广,但是因其特殊的色泽,可作为在紫菜遗传、种质改良等研究的材料。

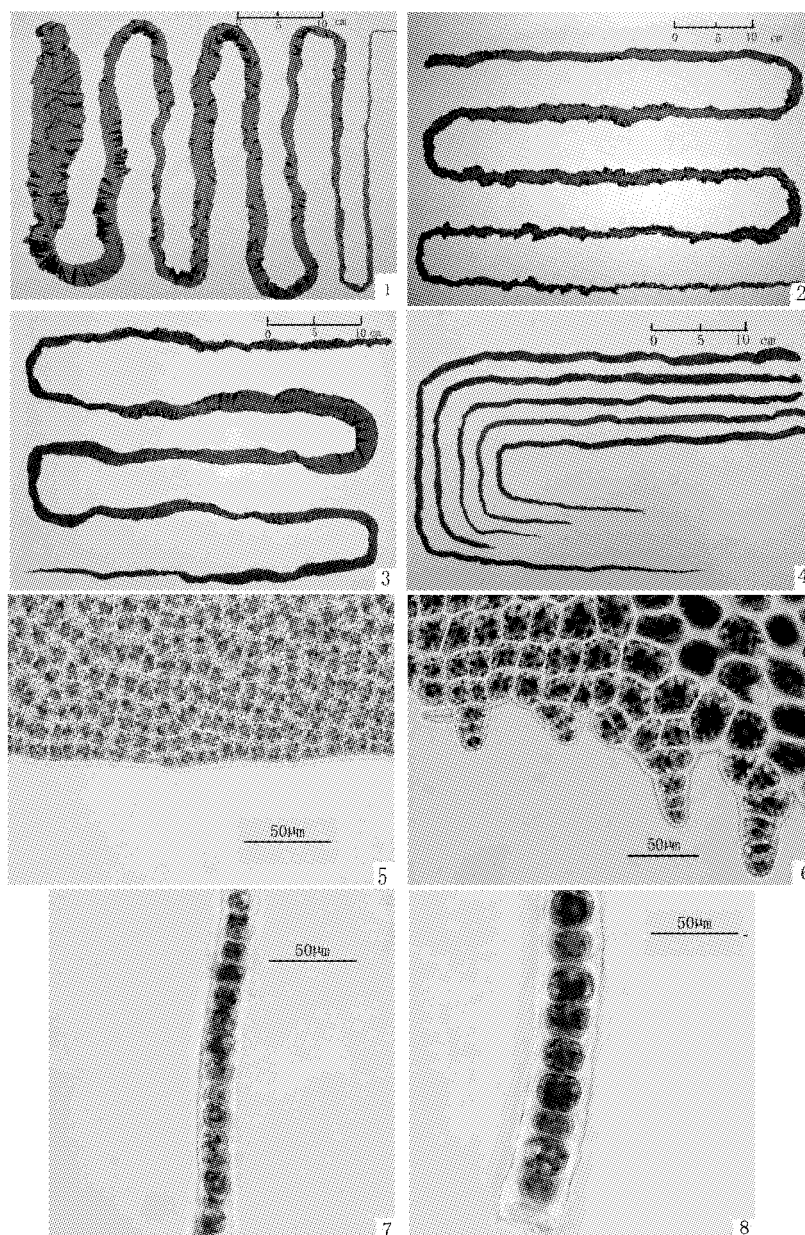
3.3 选育诱变品系遗传稳定性分析

经过多次重复实验发现,7 号 I 的 F₁ 和 F₂ 均具有许多相同的形态特征。藻体色泽为棕红色,叶片薄,藻体老化时基部呈深红棕色;披针形,无锯齿,藻体基部为脐形。叶片的长度和重量增长基本相同,但 F₁ 比 F₂ 易老化,这因为 F₂ 经过进一步筛选,藻体基因纯合度高,使一些优质基因得到较高程度表达。用 SAS 软件对叶片长度为 4~5 cm 的 F₁ 和 F₂ 藻体培养 25 d 时的平均日生长量做方差分析,结果表明,F₁ 和 F₂ 叶状体在培养初期(11~20 d),绝对日生长率都没有明显差异。但是,在培养的后期(21~25 d)中,F₂ 的绝对日生长率明显大于 F₁。由此可见,F₂ 经过进一步选育,不仅在很大程度上保持了 F₁ 的性状特征,而且生长优势日益凸显。用酶解和单克隆的方法获得子代丝状体,相当于藻体自交,个体基因纯合度高,等于连续进行 4~5 代以上自然交配选育的结果,使得后代性状保持稳定,从而达到快速育种的目的。目前,分子标记技术也开始在坛紫菜遗传多样性分析、种质鉴定、基因定位等中得到了应用^[20-21],本研究的坛紫菜诱变育种优势的 ISSR 分析,将另文报道。

参考文献:

- [1] 何培民,秦松,严晓军,等. 海藻生物技术及其应用[M]. 北京:化学工业出版社,2007:86-98.
- [2] 王素娟,马凌波,许璞,等.⁶⁰Co-γ射线诱变条斑紫菜丝状体的研究[J]. 海洋科学,1999,(4):43-47.
- [3] 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[J]. 水产学报,2005,29(2):166-172.
- [4] 陈昌生,纪德华,叶红莲,等. 坛紫菜自由丝状体的γ射线辐照及培养的研究[J]. 台湾海峡,2005,24(2):165-170.
- [5] 纪德华,陈昌生,郑伟刚,等.⁶⁰Co-γ射线辐照坛紫菜叶状体及单克隆培养的研究[J]. 台湾海峡,2005,24(2):171-177.
- [6] 今田克. アマノリ属(*Porphyra* sp.)の变异株造成の試験[R]. 水産育種研究会記録,1976,(1):35-38.
- [7] Katayama K. Studies of mutations of *Porphyra*; employment of some chemical mutagens [J]. Bull Fish Res Stn, Okayama Pref,1983,57:6-51.
- [8] 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.
- [9] 王素娟. 海藻生物技术[M]. 上海:上海科学技术出版社,1994:95-98.
- [10] 徐燕,谢潮添,陈昌生,等. 坛紫菜品系间杂交分离色素突变体及其特性的初步研究[J]. 中国水产科学,2007,14(3):489-495.
- [11] 赵孔南. 植物辐射遗传育种进展[M]. 北京:原子能出版社,1990:3-10.
- [12] Shimono K, Shikazono N, Inoue M, et al. Effect of fractionated exposure to carbon ions on the frequency of chromosome aberrations in tobacco root cells[J]. Radiat Environ Biophys, 2001,40(3):221-225.
- [13] 梁红. 植物遗传与育种[M]. 广州:广东高等教育出版社,2002:197-206.
- [14] 纪明侯. 海藻化学[M]. 北京:科学出版社,1997:485-490.
- [15] 马家海,张礼明,吉传礼,等. 条斑紫菜冷藏网实验及其产品质量分析[J]. 水产学报,1998,22(增刊):66-71.
- [16] 有贺佑勝. スサビノリの色彩と色素[J]. 遺伝,1980,34(9):8-13.
- [17] 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.

- [18] 马家海,大住幸宽,川合正允. 浙江省象山港紫菜轮栽及其品质分析的研究[J]. 中国水产科学, 1997,4(1):30-36.
- [19] 曾呈奎,王素娟,刘思俭,等. 海藻栽培学[M]. 上海:上海科技出版社,1985:154-157.
- [20] 庞国兴,王广策,胡松年,等. 坛紫菜(*Porphyra* *haitanensis*)丝状孢子体 EST 的获取及其生物信息学分析[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(5): 452-457.
- [21] 谢潮添,纪德华,陈昌生,等. ISSR 标记在坛紫菜不同色泽丝状体种质鉴定中的应用[J]. 水产学报, 2007,31(1):105-112.



图版 坛紫菜诱变选育

Plate *P. haitanensis* from mutation breeding

1:7号Ⅰ, 2:7号Ⅱ, 3:7号Ⅲ, 4:3号Ⅰ, 5:7号Ⅰ边缘无锯齿, 6:7号Ⅲ边缘锯齿, 7:7号Ⅱ长度50 cm藻体细胞横切面, 8:7号Ⅲ长度50 cm时藻体细胞横切面

1:7-Ⅰ strain, 2:7-Ⅱ strain, 3:7-Ⅲ strain, 4:3-Ⅰ strain, 5:7-Ⅰ strain without marginal, 6:7-Ⅲ strain with marginal, 7:cross section of 50 cm length blade of 7-Ⅱ strain, 8:cross section of 50 cm length blade of 7-Ⅲ strain

Preliminary study on mutation breeding of *Porphyra haitanensis* strains

CHEN Chang-sheng, XU Yan, XIE Chao-tian, JI De-hua,
LIU Pei-juan, LIANG Yan, WANG Fen-Xia, SHI Xiu-zhou
(Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: *Porphyra haitanensis* has degenerated in breed and has a reduced output and descent quality in recent ten years. The blades were guided to variation in order to select and cultivate new strains of *Porphyra haitanensis* that were high quality and high yield. ^{60}Co - γ ray was a useful mutagen in induced mutation breeding. After being treated with ^{60}Co - γ ray, free-living conchocelis of wild *Porphyra haitanensis* were induced and represented in offspring. Purple mutant and excellent practical characters strains were selected from a lot of gametophytic blades. Single cell clone and enzymolysis were used to propagate fast in pure strains of induced mutations. Moreover, the central practical characters of mutant strains were studied: ① The first one was 7-I, which were wide blades (2.99 ± 0.61) cm, grew faster (the length mean daily increase was 6.51 cm and it was 55.3% faster than control group when the length of the blades is beyond 30 cm), was a high temperature resistant strain (it grew normally at 29 °C and the resistant temperature was 2 °C higher than control group) and total phycobiliprotein content was high ($104.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of dry sample, improved by 39.0%). ② The second one was 7-II, which were narrow blades, had quick growth (the length mean daily increase was 4.26 cm and it was 58.7% faster than control group when the length of the blades is beyond 30 cm), was a thin-blade strain (it was $22.5 - 27.5 \mu\text{m}$ in the middle part of the blade and was 29.6% thinner than control group) and total phycobiliprotein content was high ($104.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of dry sample, improved by 39.4%). ③ The third one was pigmentation mutant, 3-I, which possessed of purple and thin blade ($25.0 - 32.5 \mu\text{m}$). ④ The yield per 666.6 m^2 of 7-I and 7-II was 291.5 kg, 309.6 kg respectively, which was 29%, 37% higher than control group. The results laid a solid foundation for germplasm improvement and exploitation of fine variety of *Porphyra haitanensis*.

Key words: *Porphyra haitanensis*; mutation; breeding; new strains