

文章编号:1000-0615(2007)03-0349-06

裙带菜 3n、4n 孢子体的人工育苗和海区栽培

张泽宇¹, 李晓丽², 柴 宇¹, 曹淑青¹

(1.大连水产学院农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 辽宁 大连 116023;

2.中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:使用室内保存培养的裙带菜 2n♀♂ 配子体自交及与正常 n♀♂ 配子体杂交, 培育出裙带菜 2n♀ × n♂、n♀ × 2n♂ 两个组合 3n 幼孢子体和 2n♀ × 2n♂ 组合的 4n 幼孢子体。经过 40 d 海区暂养后测定, 3n 幼孢子体两个组合平均长度分别为 1.2 cm 和 1.1 cm, 大于对照组合 2n 幼孢子体的 0.9 cm 和 4n 幼孢子体组合的 0.7 cm。使用从短滨螺中提取的粗酶和 R-10 纤维素酶的混合酶液将 2n、3n 幼孢子体酶解为原生质团, 经 Giemsa 染色后观察到的染色体数分别为 2n = 60, 3n = 90。分苗后的海区栽培期间, 在藻体的长度和重量方面, 2n♀ × n♂、n♀ × 2n♂ 两个 3n 孢子体组合间差异不显著 ($P > 0.05$), 与对照组合 2n 孢子体之间的差异极显著 ($P < 0.01$)。在裙带菜进入繁殖期的 5 月上中旬, 3n 孢子体仍保持较快的生长速度, 在 5 月 20 日测定两个组合的藻体长度和重量分别达到 4.2 m、2.3 kg 和 4.0 m、2.2 kg, 而对照组合 2n 孢子体仅达到 2.3 m 和 1.3 kg。4n 孢子体生长明显地慢于对照的 2n 孢子体 ($P < 0.01$), 藻体生长最大值的时间为 3 月中旬, 最大藻体长度和重量仅为 1.6 m 和 1.1 kg。试验结果表明, 3n 孢子体不发育, 在繁殖期内无孢子叶形成, 表现出不育的特性; 4n 孢子体形成孢子叶, 但孢子叶很薄, 孢子囊形成的数量少, 发育水平也很低, 经阴干刺激仅有极少量的孢子放出, 显示出低育的特性。

关键词:裙带菜; 3n 孢子体; 4n 孢子体; 海区栽培

中图分类号: S 971

文献标识码: A

Artificial seeding and cultivation on 3n and 4n sporophytes of *Undaria pinnatifida*

ZHANG Ze-yu¹, LI Xiao-li², CHAI Yu¹, CAO Shu-qing¹

(1. Key Laboratory of Mariculture and Biotechnology, Ministry of Agriculture, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China;

2. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: 3n sporophytes of *Undaria pinnatifida* were the hybrids developed by crossing gametophytes of 2n♀ with n♂ and crossing gametophytes of n♀ with 2n♂. 4n sporophytes of *Undaria pinnatifida* were the hybrids developed by crossing gametophytes of 2n♀ with 2n♂. All the gametophytes used above were obtained formerly and conserved indoor. After 40 days' temporary cultivation, juvenile sporophytes' lengths of 2n♀ × n♂ and n♀ × 2n♂ grew up to 1.2 cm and 1.1 cm, respectively, which were both longer than 0.9 cm of 2n and 0.7 cm of 4n. Protoplasts were isolated from 2n, 3n juvenile sporophytes by the mixed liquid of crude

收稿日期: 2006-10-17

资助项目: 辽宁省教育厅资助项目(20102133)

作者简介: 张泽宇(1950-), 男, 辽宁大连人, 教授, 硕士, 主要从事海藻生物学的研究。E-mail: zyz@dlfu.edu.cn

enzyme extracted from *Littorina breviula* and cellulase R-10 and then were stained by Giemsa. The results showed that chromosome number of sporophytes were $2n = 60$ and $3n = 90$. There was very significant difference in length and weight of sporophytes between $3n$ and $2n$ ($P < 0.01$) while there being insignificant difference in those between $2n \text{♀} \times n \text{♂}$ and $n \text{♀} \times 2n \text{♂}$ during the period of sea cultivation after seed separation. $3n$ sporophytes kept a rapid growth in the first and second ten days of May as $2n$ sporophytes entering reproductive period. On 20th May, $2n \text{♀} \times n \text{♂}$ and $n \text{♀} \times 2n \text{♂}$ sporophytes reached 4.2 m and 2.3 kg, 4.0 m and 2.2 kg in length and weight, respectively, which were much better than 2.3 m and 1.8 kg of $2n$ sporophytes. Compared with $2n$ sporophytes, $4n$ sporophytes grew slowly ($P < 0.01$). $4n$ sporophytes reached the maximal length and weight of 1.6 m and 1.1 kg during the middle ten days of March. The hybridization experiments indicated that $3n$ sporophytes were of sterility and the sporophylls were not formed. $4n$ sporophytes were of low-fertility with thimbleful spores released from sporophylls, which were flaky and could produce little sporangia, after drying in the shade.

Key words: *Undaria pinnatifida*; $3n$ sporophytes; $4n$ sporophytes; cultivation

裙带菜 [*Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar] 是经济价值较高的大型褐藻,在我国北方有较大的栽培规模,产品主要出口日本市场,是我国出口创汇的重要水产品之一^[1]。目前我国裙带菜栽培业存在的主要问题是生长周期短,在大连等北方海区每年3月份以后水温回升快,孢子叶快速发育,藻体的生长速度减慢或停止,藻体开始老化,丛生毛大量出现,产品质量较差。为了达到日本市场对产品质量的要求,生产厂家一般采用提前收获的方法,导致我国裙带菜个体小,产品的厚度、弹性和色泽较差,市场竞争力不强,产品价格较低。要延长裙带菜的生长周期,必须使3月份后裙带菜的发育期延后或停止发育,而目前延迟和降低动植物发育最有效的方法是应用多倍体技术^[2-4]。多倍体技术在贝类、虾类、鱼类等水产动物的育种方面得到了广泛的应用,在许多种类中都已经达到了产业化水平^[5-8]。陆地植物中有通过诱导 $2n$ 花粉进行三倍体育种的方法^[9-10],在海藻中张泽宇采用切掉固着器培养的方法从裙带菜幼孢子体的体细胞中诱导出 $2n \text{♀} \text{♂}$ 配子体,通过 $2n \text{♀} \text{♂}$ 配子体自交或与正常的配子体杂交,培育出 $3n$ 、 $4n$ 幼孢子体^[11]。本研究使用室内保存培养的 $2n$ 雌雄配子体自交及与正常配子体杂交培育出裙带菜 $3n$ 、 $4n$ 幼孢子体,经过海区暂养培育成 $3n$ 、 $4n$ 孢子体幼苗,经分苗后在海区浮筏上将幼苗栽培为成体,测定了 $3n$ 、 $4n$ 孢子体生长与水温的关系,比较了 $3n$ 、 $4n$ 孢子体与正常孢子体的生长发育的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为室内保存培养的裙带菜正常 n 雌雄配子体和 $2n$ 雌雄配子体(图版-1),保存培养温度为 $20 \text{ }^\circ\text{C}$,光照强度为 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光源为日光灯,光照时间为 $12 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。培养液为当地自然海水经沉淀过滤,1 L 海水添加 NaNO_3 100 mg、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 20 mg、微量元素 PI 溶液 1 mL,加热 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷却后供试验使用。培养液每月全量更换 1 次。

1.2 方法

$3n$ 、 $4n$ 孢子体幼苗的培育 配子体采苗^[12] 时间为 2004 年 8 月 15 日,杂交组合设定为 $2n \text{♀} \times n \text{♂}$ 、 $n \text{♀} \times 2n \text{♂}$ 、 $2n \text{♀} \times 2n \text{♂}$ 三个组合和 $n \text{♀} \times n \text{♂}$ 对照组合,每个组合取配子体湿重 10 mg (雌雄各半),添加 300 mL 灭菌海水后移到组织捣碎机中切碎为 $120 \sim 200 \mu\text{m}$ 的藻段,然后将其均匀地撒到铺放在培养皿内缠绕直径 3 mm 维尼纶绳的载玻片上,静置 2 d 后,将载玻片移入 300 mL 烧杯内继续培养,当幼孢子体长度达到 $400 \mu\text{m}$ 以上时移至自然海区浮筏上暂养。

培养是在生物培养箱内进行,温度设定为 $15 \text{ }^\circ\text{C}$;光照强度、光源、光照时间、培养液的制作与配方与 1.1 同,培养液每 3 天全量更换 1 次。

暂养 幼苗下海暂养时间为 2004 年 9 月 15 日。暂养前将生长幼苗的维尼纶绳缠绕在 $60 \text{ cm} \times 80 \text{ cm}$ 的聚乙烯框架上,将上端用细绳固定

后,下端切断,拆掉下端和两侧的框架后,将上端连同苗绳挂在大连水产养殖公司马栏河场的浮筏上暂养。暂养期间每 10 d 测定次幼苗长度,方法是取 50 个个体测定藻体长度取平均值。当藻体长度达到 0.5 cm 以上时分苗栽培。

3n 孢子体幼苗染色体观察 供试材料为暂养后藻体长度 0.5~1.0 cm 的 3n 孢子体幼苗,所用海螺酶为当地短滨螺(*Littorina breviula*)内脏提取的粗酶,纤维素酶为日本产 R-10 纤维素酶。方法是将裙带菜幼苗切碎,经酶解、固定后,用 Giemsa 染液染色后检查染色体数目。

分苗及海区栽培 分苗时间为 2004 年 10 月 25 日,方法是将生长幼苗的苗种绳切成 3 cm 小段,按 30 cm 的间距夹在长 8 m、直径 3 cm 的聚乙烯栽培苗绳上,再将栽培苗绳平挂在大连凌水水产养殖一场的小平岛山前栽培区的浮筏上栽培,每个月测定 1 次藻体的长度和重量,方法是测定 20 个藻体取平均值。

2 结果

2.1 3n、4n 裙带菜幼苗培育

切碎 3 d 后,配子体依靠破碎细胞溢出的原生质牢固地附着在维尼纶苗绳上。培养 10 d 后,2n 雌雄配子体开始逐渐发育成熟,雌配子体形成卵囊并排出卵(图版-2),雄配子体形成精子囊并放出精子(图版-3),卵受精后形成 3n、4n 幼孢子体。经培养 20 d 后测定,2n 雌雄配子体的成熟率分别为 85% 和 92%,略低于正常的雌雄配子体 95%;2n 雌雄配子体自交及与单倍 n 雌雄配子体杂交的受精率都达到 95% 以上,与单倍 n 雌雄配子体自交差异不明显。经过 30 d 的培养,各组合幼孢子体的长度均超过 400 μm ,达到出库暂养标准,其中 $2n\text{♀} \times n\text{♂}$ 、 $n\text{♀} \times 2n\text{♂}$ 两组合 3n 幼孢子体长度为 500 μm 左右(图版-4),略大于 $n\text{♀} \times n\text{♂}$ 组合 2n 幼孢子体的 460 μm (图版-5)和 $2n\text{♀} \times 2n\text{♂}$ 组合 4n 幼孢子体的 420 μm (图版-6)。

2.2 幼苗暂养

刚下海的各组合幼孢子体由于对水温、光照等培育条件的不适应和杂藻、浮泥附着的影响,在 4~5 d 内生长缓慢,随着对环境的适应生长速度加快。暂养 10 d 后,3n 幼孢子体两个组合的藻体长度与对照的 2n 幼孢子体几乎相同,均为 0.2 cm 左右,肉眼已清晰可见,4n 幼孢子体明显地小于

3n、2n 幼孢子体。在暂养 20 d 后,3n 幼孢子体的藻体长度达到 0.5 cm 左右,且 $2n\text{♀} \times n\text{♂}$ 、 $n\text{♀} \times 2n\text{♂}$ 两组合差异不明显,略大于 2n 幼孢子体($n\text{♀} \times n\text{♂}$)长度达 0.4 cm,4n($2n\text{♀} \times 2n\text{♂}$)幼孢子体生长缓慢,藻体长度仅为 0.2 cm。暂养 30 d 后测定,3n 幼孢子体两个组合的藻体长度分别为 0.8 cm 和 0.7 cm,显示出较快的生长速度,稍快于 2n 幼孢子体(长度达到 0.6 cm),4n 幼孢子体的藻体长度为 0.4 cm,明显慢于 2n 幼孢子体。暂养 40 d 后,3n 幼孢子体的两个组合藻体长度分别达到 1.2 cm 和 1.1 cm,已经明显地大于 2n 幼孢子体(0.9 cm),4n 幼孢子体的藻体长度也增长至 0.7 cm。暂养期间 3n、4n 幼孢子体生长和海区水温变化如图 1 所示。可以看出,在暂养初期,3n 幼孢子体的生长略快于始终快于 2n 幼孢子体,随着暂养时间的延长其生长优势逐渐明显;而 4n 幼孢子体的生长在整个暂养期间始终慢于 2n 幼孢子体。按照 0.5 cm 的分苗标准,对照的 2n 幼孢子体需要 25 d,3n 幼孢子体需要暂养 20 d,而 4n 幼孢子体则需要 30 d 以上。经过 40 d 的暂养,各组合幼孢子体均达到分苗标准成为裙带菜幼苗(图版-7),可分苗进入栽培阶段。

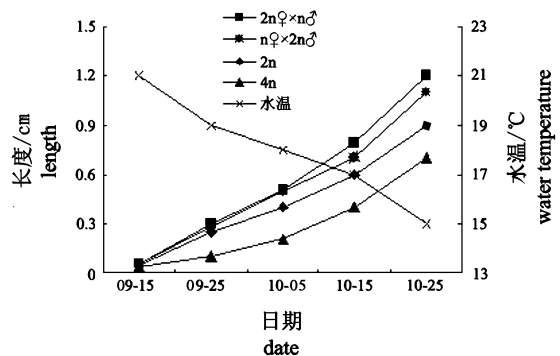


图 1 暂养期间各组合幼孢子体生长与水温的变化
Fig. 1 Growth of juvenile sporophytes in each group and natural sea water temperature changes during the period of temporary sea cultivation

2.3 3n 孢子体幼苗的染色体数目检查

裙带菜幼苗经酶解后细胞壁被溶解,去壁后的细胞形成一个或数个细胞的原生质团,经低渗溶液处理摔碎染色后观察,3n 孢子体的染色体数为 90 条(图版-8),2n 孢子体细胞的染色体数为 60 条(图版-9)。

2.4 3n、4n 孢子体的海区栽培

海区栽培期间 3n、4n 孢子体的长度和重量生长情况如表 1 所示。可以看出,在整个栽培期间,3n 孢子体两个组合在藻体的长度生长方面一直优于正常的 2n 孢子体 ($P < 0.01$),从 2 月中旬开始重量生长方面也一直优于正常 2n 孢子体 ($P < 0.01$),而且随着藻体的增大其生长优势愈加明显,两个组合间无显著差异 ($P > 0.05$)。3n 孢子体两个组合间在 3n 孢子体生长速度最快的时期是裙带菜孢子叶生长和快速发育的 3 月下旬到 4 月中旬,两个组合藻体的平均长度和重量分别达到 3.8 m、2.1 kg 和 3.7 m、2.0 kg,此时 2n 孢子体的藻体长度和重量分别为 2.5 m、1.4 kg,3n 孢子体表现出明显的生长优势。5 月份以后,2n 孢子体的孢子叶开始快速地发育并逐渐进入繁殖期,藻体的生长停止,叶片梢部溃烂脱落速度加快,藻体的长度和重量逐渐降低,而此时 3n 孢子

体仍在继续生长,藻体的长度和重量继续增加,在 5 月 20 日测定,3n 孢子体两个组合的藻体长度分别为 4.2 m 和 4.0 m,重量为 2.3 kg 和 2.2 kg,达到了个体生长的最大值,而此时 2n 孢子体的藻体长度和重量分别降低为 2.2 m 和 1.3 kg。以上研究结果表明,3n 孢子体不仅在生长速度方面优于 2n 孢子体,其生长期也比 2n 孢子体延长一个月以上。

在海区栽培期间,4n 孢子体生长缓慢,其长度和重量生长始终慢于 2n 孢子体 ($P < 0.01$)。从表 1 可以看出,4n 孢子体藻体长度和重量生长的最大值为 1.6 m、1.1 kg,出现时间在 3 月 20 日,明显地小于 2n 孢子体(长度和重量分别为 2.3 m、1.3 kg)。随着水温的升高叶片梢部脱落速度加快,藻体长度和重量迅速降低,在 4 月 20 日,其藻体长度和重量降低至 1.4 m、0.9 kg,5 月 20 日降低为 1.0 m、0.6 kg,表现出明显的生长劣势。

表 1 栽培期间各组合裙带菜藻体的生长情况及水温的变化

Fig. 1 Growth of *Undaria pinnatifida* in each group and natural water temperature changes during the period of sea cultivation

日期 date	温度(°C) temperature	n♀ × n♂ (对照组)		2n♀ × n♂		n♀ × 2n♂		2n♀ × 2n♂	
		长度(m) length	重量(kg) weight	长度(m) length	重量(kg) weight	长度(m) length	重量(kg) weight	长度(m) length	重量(kg) weight
12-20-2004	9.8	1.0 ± 0.16	0.6 ± 0.16	1.2 ± 0.15a**	0.6 ± 0.14b	1.2 ± 0.21a**	0.5 ± 0.11b	0.6 ± 0.12**	0.2 ± 0.16**
01-20-2005	6.4	1.4 ± 0.17	0.9 ± 0.16	1.7 ± 0.11a**	1.0 ± 0.19b	1.6 ± 0.19a**	0.9 ± 0.18b	0.9 ± 0.15**	0.4 ± 0.15**
02-20-2005	2.0	1.8 ± 0.16	1.1 ± 0.15	2.3 ± 0.20a**	1.3 ± 0.12b**	2.2 ± 0.18a**	1.3 ± 0.18b**	1.3 ± 0.15**	0.8 ± 0.17**
03-20-2005	2.5	2.3 ± 0.16	1.3 ± 0.22	2.9 ± 0.22a**	1.6 ± 0.22b**	2.8 ± 0.17a**	1.6 ± 0.15b**	1.6 ± 0.25**	1.1 ± 0.19**
04-20-2005	5.4	2.5 ± 0.23	1.4 ± 0.15	3.8 ± 0.19a**	2.1 ± 0.18b**	3.7 ± 0.18a**	2.0 ± 0.18b**	1.4 ± 0.22**	0.9 ± 0.17**
05-20-2005	8.4	2.2 ± 0.22	1.3 ± 0.17	4.2 ± 0.22a**	2.3 ± 0.19b**	4.0 ± 0.16c**	2.2 ± 0.26b**	1.0 ± 0.19**	0.6 ± 0.16**

注:同行数据中 * * 表示与对照组之间差异极显著 ($P < 0.01$),相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)

Notes: * * show very significant difference compared control group ($P < 0.01$) and same alphabet show no significant difference ($P > 0.05$) in one row ($P < 0.01$)

3 讨论

3.1 多倍体的育性

三倍体的低育性在海产经济动物的育种中已有报道^[3],并且在一些种类如牡蛎等应用在产业中,获得了良好的经济效益,因此,三倍体大量制作技术已经成为海产经济动植物多倍体技术研究的重点^[5]。关于裙带菜多倍体的育性,本试验结果表明,3n 孢子体基本不形成孢子叶。在大连海区,裙带菜一般在 3 月上旬开始大量形成孢子叶(图版-10),随着水温的升高在 3 月下旬至 4 月中旬孢子叶进入生长和发育阶段,此时孢子叶的片

层数量、面积和厚度快速增加,并在孢子叶的表面逐渐形成孢子囊,在 5 月上旬进入繁殖期。3n 孢子体在 3 月底之前没有孢子叶形成(图版-11),进入 4 月份以后在茎的两侧形成一排波折状翼状叶,随着水温的升高逐渐生长为类似孢子叶的形态。但此孢子叶生长极其缓慢,即使在 5 月中旬的繁殖期内,3n 孢子体的孢子叶生长仍处于初级阶段,与 2n 孢子体相比,孢子叶的层数少,而且层片小而薄,与 2n 孢子体的孢子叶形态差异较大(图版-12)。通过切片观察,3n 孢子体的孢子叶根本没有发育,其表皮细胞与叶片的表皮细胞没有

差异,没有隔丝和孢子囊的形成。在 6 月下旬裙带菜孢子放散高峰期内,对 3n 孢子体的育性进行了测定,孢子叶经阴干刺激后也没有孢子放出,表现出明显的不育的特征。

四倍体在理论上是可育的^[13],通过获得的二倍配子与正常单倍配子的杂交,可以获得 100% 的三倍体,是大量制备三倍体的有效途径,四倍体的研究已经成为多倍体研究的热点^[5-6]。本研究发现,裙带菜 4n 孢子体孢子叶的形成时间与正常裙带菜基本相同,大体在 2 月下旬和 3 月上旬开始形成,随着水温的升高孢子叶生长的很快。到 5 月中下旬观察,4n 孢子体的孢子叶形状与 2n 孢子体的孢子叶基本相同,但层数少,层片大而薄,且排列疏松,颜色也较浅(图版-12)。通过切片可以观察到孢子叶表面有大量的隔丝形成,但隔丝腔内孢子囊形成的数量却很少。在 6 月下旬的进行了采孢子试验,经阴干刺激后,4n 孢子体的孢子叶仅有个别孢子放出,且此孢子活动能力较差,附着后萌发率极低,没有发现配子体形成。裙带菜 4n 孢子体的这种低育性,目前在海产动植物多倍体研究中尚未见报道,其原因今后需要做深入的研究。

3.2 多倍体的生长

三倍体的应用价值在于它的生长优势,由于低育或不育,并推测由于发育受阻,将发育的能量转化为生长,在繁殖期表现出生长优势,并延长了生长周期,从而获得较高的产量和质量,这已在牡蛎、扇贝、鲍等经济贝类多倍体研究及产业化应用中得到了证明^[4-6]。本研究结果表明,裙带菜 3n 孢子体在进入繁殖期前已表现出生长优势,在藻体的长度和重量生长方面优于正常 2n 孢子体,这与长牡蛎、栉孔扇贝等贝类三倍体研究结果一致^[14-15]。3n 孢子体生长速度最快是在 3 月 20 日至 4 月 20 日期间,此期间正值裙带菜快速发育阶段,藻体的生长速度明显减慢或停止,孢子叶迅速增大变厚并逐渐形成孢子囊而进入繁殖期。3n 孢子体不形成孢子叶,此期间仍保持较快的生长速度,藻体的长度和重量的月增长达到最高点,表现出明显的不育和低育的生长优势。在进入裙带菜繁殖期的 5 月上中旬,2n 孢子体藻体生长停止,孢子叶表面大量形成孢子囊并放散孢子,叶片梢部脱落加快,藻体长度迅速变短,叶片表面变的粗糙进入衰老期。而此时的 3n 孢子体虽然叶片梢部

也开始脱落,但生长并没有停止,藻体的长度和重量仍在增加,在 5 月 20 日达到了个体生长的最大值(图版-13),且叶片表面光滑具有光泽,仍保持着良好的产品质量,显示出良好的产业应用优势。

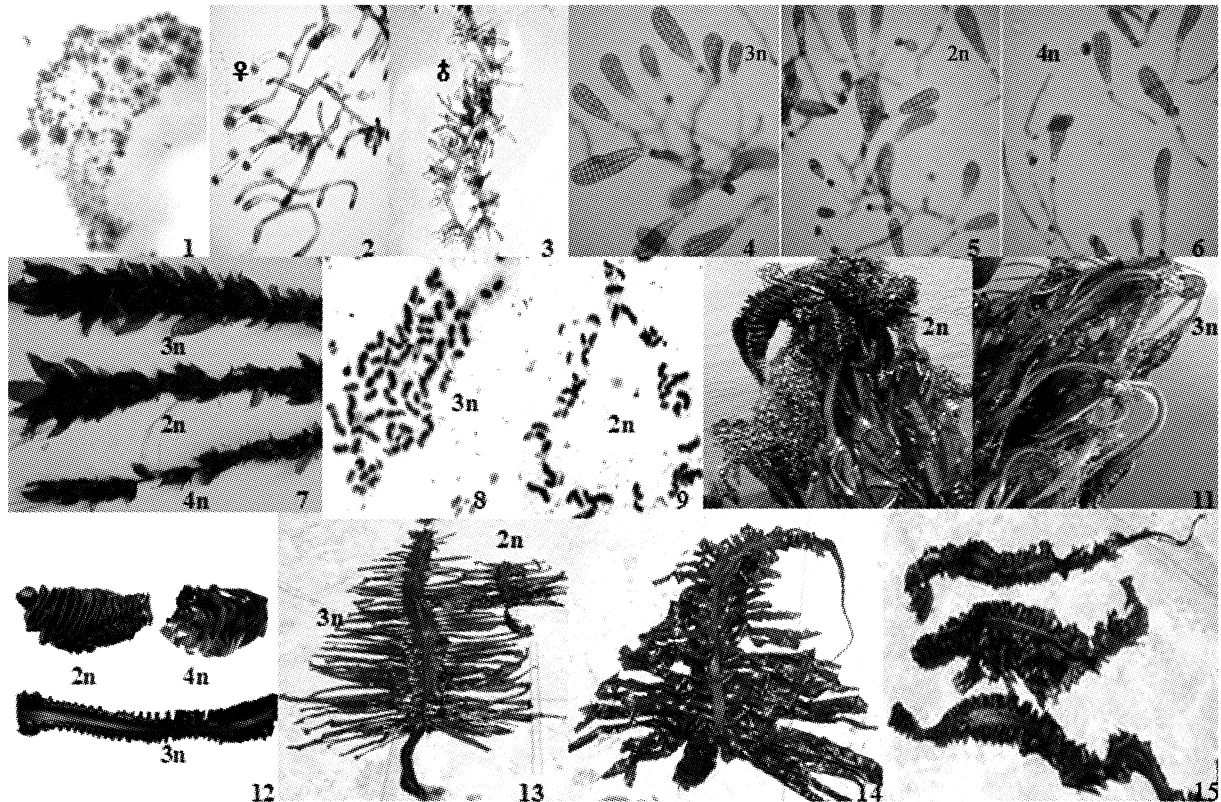
海区栽培结果表明,4n 孢子体生长速度慢,生长期短,显示出明显的生长劣势。在栽培期间,其生长速度始终慢于 2n 孢子体,藻体的最大长度和重量是 3 月 20 日测定的 1.6 m 和 1.1 kg(图版-14),以后随着水温的升高其生长速度减慢且叶片梢部开始溃烂脱落。进入 4 月份以后,藻体的生长基本停止,藻体表面失去了光泽,叶片中下部分呈黑褐色,梢部溃烂脱落加快,藻体长度明显减少。在 5 月 20 日测定,藻体长度仅剩 1.0 m,可见茎和假根出现空腔,藻体已经死亡。

另外,在海区栽培的 3n 孢子体中发现了一些畸形藻体(图版-15),它们具有一定的数量且形态又很相似,藻体基本失去了裙带菜的形态。其共同特点是藻体最大长度一般在 1.0 m 左右,呈黑褐色,藻体普遍较厚较重,主要特征是茎和中肋变宽变厚,在茎和中肋的两侧形成波折状孢子叶并延伸至藻体的中部,叶片短小且表面粗糙。部分藻体只在中肋的一侧形成裂叶,而另一侧则仅形成波折状孢子叶,使藻体呈“毛刷”状。与普通裙带菜相比,畸形藻体的个体较小,生长期短,产品质量差,其形成的原因和机理尚需进一步的探讨。

参考文献:

- [1] 刘焕亮. 水产养殖学概论[M]. 青岛:青岛出版社, 2000:22-33.
- [2] 代西梅,黄群策. 植物多倍体研究进展[J]. 河南农业科学, 2005,(1):9-12.
- [3] 王昭萍,王如才,于瑞海,等. 多倍体贝类的生物学特性[J]. 青岛海洋大学学报, 1998,28(3):399-404.
- [4] Allen S K Jr, Downing S G L. Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content and sexual maturation in yearlings[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1986, 102:197-208.
- [5] 常亚青,王子臣,杨旦光. 贝类多倍体育种研究现状[J]. 水产科学, 21(1):31-36.
- [6] 包振民,万俊芬,王继业,等. 海洋经济贝类育种研究进展[J]. 中国海洋大学学报, 2002,32(4):567-573.
- [7] 邱高峰. 虾蟹类遗传育种学研究[J]. 水产学报, 1998, 22(3):265-274.
- [8] 朱传忠,邹桂伟. 鱼类多倍体育种技术及其在水产养

- 殖中的应用[J].淡水渔业,2004,34(3):53-56.
- [9] Negri V, Lemmi G. Effect of selection and temperature stress on the production of 2n gametes in *Lotus tenuis* [J]. Plant Breeding, 1998, 117 (4):345-349.
- [10] 康向阳,朱之梯,张志毅.高温诱导白杨 2n 花粉有效处理时期的研究[J].北京林业大学学报,2000,22(3):1-4.
- [11] 张泽宇.裙带菜幼孢子体营养细胞多倍体育种的初步研究[J].中国水产科学,1999,6(3):46-48.
- [12] 张泽宇,曹淑清,邵魁双,等.裙带菜配子体采苗及育苗的研究[J].大连水产学院学报,1999,14(3):19-24.
- [13] 王昭萍,李慷均,于瑞海,等.贝类四倍体育种研究进展[J].中国海洋大学学报,2004,34(2):195-202.
- [14] 杨爱国,王清印,张岩.栉孔扇贝三倍体与二倍体的生长比较[J].海洋科学,2000,24(8):21-23.
- [15] 林琪,吴建绍,曾志南.长牡蛎诱导三倍体与二倍体的养殖生物学比较研究[J].水产科技情报,2001,28(6):265-267.



图版 Plate

1. 幼孢子体营养细胞诱导出的 2n 配子体, $\times 10$; 2. 2n 雌配子体, $\times 100$; 3. 2n 雄配子体, $\times 100$; 4. 3n 幼孢子体, $\times 100$; 5. 2n 幼孢子体, $\times 100$; 6. 4n 幼孢子体, $\times 100$; 7. 暂养期间 2n、3n、4n 幼孢子体, $\times 0.5$; 8. 3n 染色体, $\times 1000$; 9. 2n 染色体, $\times 1000$; 10. 3 月上旬期间 2n 孢子体, $\times 0.02$; 11. 3 月上旬期间 3n 孢子体, $\times 0.02$; 12. 2n、3n、4n 孢子叶, $\times 0.1$; 13. 5 月中旬期间 3n、2n 孢子体, $\times 0.01$; 14. 4n 孢子体, $\times 0.02$; 15. 3n 畸形孢子体, $\times 0.04$

1. 2n gametophytes induced from the vegetative cells of juvenile sporophytes, $\times 10$; 2. 2n female gametophytes, $\times 100$; 3. 2n male gametophytes, $\times 100$; 4. 3n juvenile sporophytes, $\times 100$; 5. 2n juvenile sporophytes, $\times 100$; 6. 4n juvenile sporophytes, $\times 100$; 7. 2n, 3n, 4n juvenile sporophytes during the period of temporary sea cultivation, $\times 0.5$; 8. 3n chromosomes, $\times 1000$; 9. 2n chromosomes, $\times 1000$; 10. 2n sporophytes during the middle ten days of March, $\times 0.02$; 11. 3n sporophytes during the middle ten days of March, $\times 0.02$; 12. 2n, 3n, 4n sporophylls, $\times 0.1$; 13. 3n, 2n sporophytes during the middle ten days of May, $\times 0.01$; 14. 4n sporophyte, $\times 0.02$; 15. Malformed 3n sporophytes, $\times 0.04$