

## 坛紫菜与 *Pyropia radi* 种间杂交重组 优良品系的选育与特性分析

吴宏肖<sup>1</sup>, 严兴洪<sup>1,2\*</sup>, 宋武林<sup>3,4</sup>, 刘燕飞<sup>4</sup>, 刘长军<sup>5</sup>, 王铁杆<sup>6</sup>

(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;

3. 福建省海洋经济运行监测与评估中心, 福建 福州 350003;

4. 福建省水产技术推广总站, 福建 福州 350003;

5. 浙江省象山县水产技术推广站, 浙江 象山 315700;

6. 浙江省海水养殖研究所, 浙江 温州 325000)

**摘要:** 为获得具明显杂交重组优势的紫菜优良品系, 实验以印度产紫菜 *Pyropia radi* 野生型品系 (*Pr-WT01*, 特点: 藻体厚、生长慢、韧性好、壳孢子放散量多) 为父本, 坛紫菜诱变品系 (*Ph-HMC5*, 特点: 藻体薄、生长快、韧性强、壳孢子放散量少) 为母本进行种间杂交, 从杂合丝状体产生的  $F_1$  叶状体中选出 4 个综合性状优良的杂交重组品系, *HR-6* 品系为其中的最优良品系。父本品系叶状体的绝对生长率最大值为 0.39 cm/d, 母本品系为 5.24 cm/d, 而 *HR-6* 品系高达 9.27 cm/d, 在日龄 30~50 d 期间, 它的平均绝对生长率比母本品系的最大生长率还大。日龄 60 d 的叶状体平均体长父本品系为 13.18 cm, 母本品系为 85.67 cm, 而 *HR-6* 品系已达 218.57 cm, 分别是父、母本品系的 16.58 倍和 2.55 倍。日龄 35 d 的 *HR-6* 品系叶状体的叶绿素 *a* 含量高达 9.43 mg/g, 比父、母本品系分别增加了 50% 和 20%; 另外, 它的总藻胆蛋白含量高达 99.62 mg/g, 分别是父、母本品系的 2.18 倍和 1.74 倍。日龄 35 d 的 *HR-6* 品系的叶状体平均厚度为 26.22  $\mu\text{m}$ , 比父本品系降低了 37%, 比母本品系增加了 30%, 叶状体的韧性明显增加。*HR-6* 品系的壳孢子放散总量达 167.72 万个/贝, 分别为父、母本品系的 1.13 和 2.65 倍。上述研究结果表明, *HR-6* 品系具有生长快、品质好、壳孢子放散量大等优良性状, 表现出良好的生产适用性。

**关键词:** 坛紫菜; *Pyropia radi*; 种间杂交; 重组品系; 生长率; 光合色素

**中图分类号:** S 968.4

**文献标志码:** A

坛紫菜 (*Pyropia haitanensis*)<sup>[1]</sup> 在系统分类学上隶属于红藻门 (Rhodophyta), 原红藻纲 (Protofloridae), 红毛菜目 (Bangiales), 红毛菜科 (Bangiaceae), *Pyropia* 属, 是一种十分重要的经济海藻, 其年产量约占我国紫菜年总产量的四分之三<sup>[2]</sup>。在 20 世纪 60 年代, 坛紫菜人工育苗和栽培获得成功, 坛紫菜产业得以建立并发展<sup>[3]</sup>。几十年来, 坛紫菜栽培业所用种菜种质混杂, 优质

率低, 再加上养殖密度过高, 导致病害频发、种质退化, 严重影响了紫菜栽培业的正常进行, 由此良种选育工作被提到日程上来<sup>[3]</sup>。

至今, 利用人工诱变育种技术已获得了耐高温、耐低盐、耐低氮磷等优良品系<sup>[4-9]</sup>, 并且培育出优质高产的国审坛紫菜新品种<sup>[10]</sup>。在以往的研究中, 多数以耐高温性、生长期、生长速度、藻胆蛋白含量等目标性状来选育新品种, 而在生产上

收稿日期: 2014-05-08 修回日期: 2014-05-27

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A411); 国家自然科学基金(31072208); 农业部公益性专项(200903030); 国家农业科技成果转化资金项目(2013GB2C220537); 上海市科委重点科技攻关项目(10391901100); 国家海洋局公益专项(201105008, 201105023); 福建省科技重大专项(2011NZ0001-1); 浙江省重大科技专项(2012C12907-6); 上海高校水产学一流学科建设项目

通信作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

使用新品种时,对壳孢子放散量有很高的要求。选育一个新品种不仅要求叶状体需具备优良性状,而且它的壳孢子放散量也必须能达到生产要求,否则无法被生产者所接受。所以,壳孢子放散量也是紫菜新品种选育的一个重要目标性状。

杂交育种主要利用杂种优势,即优良性状不同的个体进行交配或结合产生的杂交子代在生长、生化特性等方面优于亲本<sup>[11]</sup>。在相关报道中,已有学者利用坛紫菜色素突变体之间的种内杂交,获得了具有某些优良性状的重组品系<sup>[12]</sup>,但未见杂交重组品系被用于生产的报道。杂交育种在农业上的应用非常成功,杂交水稻是利用杂种优势的成功典范之一<sup>[13]</sup>。杂种优势产生的一个重要原因是亲本间的性状差异大<sup>[14]</sup>。2013年,刘海洋等<sup>[15]</sup>首次报道了坛紫菜与印度产紫菜 *Pyropia radi* 的种间杂交可行性和可育性。*Pyropia radi* 野生型品系 (*Pr-WT01*, 拟作为父本) 的壳孢子放散量多,叶状体较厚,韧性好,生长慢;而坛紫菜诱变品系 (*Ph-HMC5*, 拟作为母本) 的壳孢子放散量较少,叶状体较薄,韧性差,但具有生长快,色素含量高等优良性状,本研究拟通过这两个亲本间的种间杂交,选育出具有母本的优良性状,同时在藻体韧性和壳孢子放散量方面得到较大改善的紫菜新品系,并逐步将其培育成生产适用性好的新品种。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本杂交实验的父本为 *Pyropia radi* 野生品系 (*Pr-WT01*), 它的分离过程: 先从采自印度半岛海域的天然叶状体中获得果孢子, 再培养成自由丝状体<sup>[16]</sup>; 然后, 在室内再获得自由丝状体的壳孢子, 后者被培养成叶状体; 利用酶解技术分离出叶状体的单离体细胞<sup>[17]</sup>, 并将它们培养成再生叶状体; 单个的再生叶状体经过一段时间培养后, 利用其单性生殖的繁殖特性<sup>[18]</sup> 获得纯合的自由丝状体 (品系), 并保存在实验室。该品系的叶状体特征: 藻体较厚、韧性好、生长慢、外形多呈披针形、藻体颜色暗绿略带褐红、基部较绿、梢部较红、具丰富的边缘刺 (图版-1~4)。杂交母本为坛紫菜诱变品系 (*Ph-HMC5*), 也是利用单性生殖获得的遗传纯系。该品系的叶状体特征: 藻体较薄、韧性差、生长快、外形呈细长型、藻体颜色较均一、呈浅红棕色、无明显的边缘刺 (图版-5~8)。

### 1.2 实验方法

#### 亲本的杂交与杂合 $F_1$ 代叶状体的培养

杂交实验与杂合丝状体以及  $F_1$  叶状体的培养方法同刘海洋等<sup>[15]</sup>, 做稍许调整: 用棉线收集放散的壳孢子并充气培养, 当壳孢子苗长至 1 cm 左右, 将其从棉线上取下来, 继续充气培养。培养条件: 温度为 23 °C, 光密度为 50  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 光周期为 10L:14D, 使用的培养液均为富含 MES 营养盐<sup>[16]</sup> 的灭菌海水, 每隔 5 天更换一次培养液。

**优良品系的分离** 根据颜色和生长速度等指标在杂合丝状体产生的  $F_1$  颜色嵌合叶状体中选出 4 个生长快、颜色好的细胞组织块 (简称为色块), 然后用海螺酶分别酶解处理 4 个色块, 分离出大量的单离体细胞进行再生培养<sup>[19]</sup>。经过 5~7 周的培养, 在体细胞再生苗中挑选出生长快的藻体, 进行单棵培养。再培养数周后, 待藻体成熟发生单性生殖, 各色块就分别产生了纯合的自由丝状体 (品系)。通过比较 4 个选育品系与亲本品系的壳孢子萌发体的藻体形态、颜色、生长速度、生长期长短、光合色素含量等选育性状, 从中筛选出杂交重组优势最明显的品系, 即为优良品系。

**优良品系的特性分析** (1) 叶状体生长的测定: 随机取 30 d 日龄的壳孢子苗 20 棵, 每隔 5 d 测量一次叶状体的体长、体宽及湿重, 各取平均值。特定生长率 (specific growth rate, SGR) 的计算方法同 Stein<sup>[20]</sup>, 采用公式  $K_1 = (\ln N - \ln N_0)/t$  计算; 绝对生长率 (absolute growth rate, AGR) 采用公式  $K_2 = (L - L_0)/t$  计算。式中,  $N, L$  均为某次测量所得的叶状体长度,  $N_0, L_0$  为前一次测量的叶状体的长度,  $t$  为时间, 以天 (d) 为单位。

(2) 叶状体的活体吸收光谱和色素蛋白含量的测定: 活体吸收光谱和叶绿素  $a$  (Chlorophyll  $a$ , Chl.  $a$ ) 含量的测定方法同 Yan 等<sup>[21]</sup>; 藻红蛋白 (Phycocyanin, RPE)、藻蓝蛋白 (Phycocyanin, RPC)、别藻蓝蛋白 (Allophycocyanin, APC) 含量的测定方法同高洪峰<sup>[22]</sup>, 稍有改进; 总藻胆蛋白含量为藻红蛋白、藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白的总和; 所用紫外分光光度计型号为 UV-1750 (日本岛津公司)。

(3) 叶状体的厚度测定: 分别取 35 日龄的叶状体, 将其平铺在白色板子上, 用双面刀片 (FLYING EAGLE, 74-C) 分别对叶状体的梢部、中部和基部进行徒手切片, 在光学显微镜 (OLYMPUS-BH) 下测量切片的厚度, 每个部位

的厚度为 30 个切片的平均值。

(4)壳孢子放散量统计:在 250 mL 烧杯中加入 50 mL 的培养液,每个烧杯放入一个已成熟的贝壳丝状体进行充气培养,每个品系设置 3 个平行组。由于壳孢子的放散高峰通常出现在上午,以 7~12 时放散量最多<sup>[23]</sup>,因此,本实验在每天下午 1 点,将每个实验组的 50 mL 壳孢子水倒入培养皿( $\Phi=9$  cm)中,静置培养 24 h 后在光学倒置显微镜(Nikon ECLIPSE TS100)下按穿越培养皿正中央的十字形路线计数 20 个视野(10 倍)内的壳孢子数目,取其平均值为单个视野的壳孢子数,根据单个视野面积与培养皿的底面积,计算出一个培养皿内的视野数,然后再计算出一个培养皿的壳孢子数,即为单个贝壳的壳孢子日放散量。每个贝壳在壳孢子开始放散后连续计数 20 d,20 d 的壳孢子总数即为单个贝壳的总放散量。

**数据统计分析** 实验数据用 Excel 2010 进行常规计算后,用 SPSS 19.0 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 8.5 软件制作。

## 2 结果

### 2.1 亲本的杂交

分别挑选具有成熟精子囊的父本叶状体和具有成熟果胞的母本叶状体,按 1:1 的比例混合培养,5 d 后发现母本叶状体上已出现较多的鲜红色果孢子囊,随后移去父本叶状体,继续单棵培养母本叶状体 3~5 d,果孢子囊发育成熟,叶状体经阴干刺激后放

散出很多的果孢子,后者萌发长成杂合自由丝状体。

### 2.2 优良品系的筛选

杂合丝状体成熟后释放出大量的壳孢子,后者绝大多数发育成形状呈块状并直线型排列的  $F_1$  嵌合叶状体,从中再挑选出 4 个综合性状优良的色块,它们的体细胞再生苗培养 70 d 左右,分别通过单性生殖产生遗传纯合的自由丝状体(品系)。通过比较 4 个选育品系与亲本品系的  $F_1$  壳孢子苗的形态、颜色、生长等选育性状,最终挑选出具有明显杂交重组优势的优良品系,被命名为 *HR-6* 品系。

### 2.3 优良品系 $F_1$ 叶状体的生长与成熟

*HR-6* 品系的壳孢子萌发体间的形态和颜色高度一致,其性别全部为雄性。其形态呈细长形,上下粗细较均匀,颜色呈褐红色,梢部和基部的颜色差异较小,藻体较柔软,但韧性好,具有丰富的边缘刺(图版-9~12)。

*HR-6* 品系和亲本品系的  $F_1$  叶状体生长情况如表 1 所示。在整个培养期间,*HR-6* 品系的  $F_1$  叶状体的平均体长均远远大于亲本品系,差异性极显著( $P < 0.01$ )。日龄 30 d 时,*HR-6* 品系的平均体长就达到 23.36 cm,是同时期父、母本品系的 10.34 倍和 6.08 倍;日龄 60 d 时,父本品系的平均体长为 13.18 cm,母本品系的平均体长为 85.67 cm,而 *HR-6* 品系的平均体长已达 218.57 cm,分别是父、母本品系的 16.58 倍和 2.55 倍。

在整个培养期间,*HR-6* 品系的长宽比值远大于父、母本品系,差异极显著( $P < 0.01$ )(表 1)。培养 30~35 d 期间,*HR-6* 品系的长宽比值增加,随后缓慢下降;父本的长宽比值从 45 d 就开始下降;30~55 d 母本品系的长宽比值增长非常缓慢,随后下降。

表 1 优良品系(*HR-6*)和亲本品系(*Pr-WT01*,*Ph-HMC5*) $F_1$ 叶状体的平均体长和长宽比

Tab.1 The mean length and length-width ratio of the  $F_1$  gametophytic blades of the improved strain(*HR-6*) and the parental strains(*Pr-WT01*,*Ph-HMC5*) n = 20; mean  $\pm$  SD

培养天数/d culture time	平均体长/cm mean length			长宽比 length-width ratio		
	<i>Pr-WT01</i>	<i>Ph-HMC5</i>	<i>HR-6</i>	<i>Pr-WT01</i>	<i>Ph-HMC5</i>	<i>HR-6</i>
30	2.26 $\pm$ 0.40 **	3.84 $\pm$ 0.30 **	23.36 $\pm$ 3.43	11.54 $\pm$ 2.53 **	9.85 $\pm$ 1.72 **	51.94 $\pm$ 6.25
35	4.19 $\pm$ 0.69 **	9.57 $\pm$ 0.99 **	56.26 $\pm$ 3.71	11.20 $\pm$ 1.73 **	12.93 $\pm$ 1.66 **	72.53 $\pm$ 7.61
40	5.86 $\pm$ 0.83 **	17.85 $\pm$ 2.00 **	100.23 $\pm$ 7.84	11.65 $\pm$ 1.55 **	15.00 $\pm$ 2.89 **	67.67 $\pm$ 6.20
45	7.33 $\pm$ 1.32 **	28.57 $\pm$ 3.15 **	146.6 $\pm$ 4.65	9.60 $\pm$ 0.98 **	15.81 $\pm$ 2.20 **	64.57 $\pm$ 7.96
50	9.20 $\pm$ 1.15 **	47.63 $\pm$ 1.44 **	179.67 $\pm$ 7.77	9.24 $\pm$ 1.13 **	16.75 $\pm$ 1.57 **	64.39 $\pm$ 3.50
55	10.57 $\pm$ 1.17 **	73.83 $\pm$ 2.67 **	200.00 $\pm$ 12.77	8.08 $\pm$ 1.45 **	17.45 $\pm$ 0.87 **	58.99 $\pm$ 2.40
60	13.18 $\pm$ 0.95 **	85.67 $\pm$ 3.06 **	218.57 $\pm$ 19.64	6.87 $\pm$ 0.83 **	13.98 $\pm$ 0.09 **	49.29 $\pm$ 2.34

注: \*\* 表示差异极显著( $P < 0.01$ , *t*-test)

Notes: \*\* highly significant difference( $P < 0.01$ , *t*-test)

培养 30~40 d,*HR-6* 品系的叶状体鲜重增长处于缓慢期,其平均鲜重还没有表现出太大的优

势;但 40 d 之后,*HR-6* 品系的鲜重增长进入快速生长期,单棵鲜重迅速增加,远远超过两个亲本品

系(图1)。60日龄时,HR-6品系单裸叶状体的平均鲜重为4.09 g,分别是父、母本品系的38.30倍和2.67倍。

由表2可知,父本品系的生长缓慢,其绝对生长率最大值为0.39 cm/d,出现在31~35 d;母本品系的绝对生长率最大值为5.24 cm/d,出现在51~55 d;HR-6品系的绝对生长率最大值为9.27 cm/d,出现在41~45 d,且在31~50 d期间,它的绝对生长率均高于母本的最大生长率。

父本品系的生长期较短,培养31~35 d,少数个体就出现了成熟,至第45天,95%的个体已成熟,至第50天,所有个体全成熟;母本品系的生长期较长,在51~55 d,少数个体成熟,至第70天,85%个体成熟,至第80天,所有个体全成熟;HR-6品系的生长期与父本品系相似,在31~35 d,少数个体出现成熟,至第45天,85%个体成熟,至

第50天,所有个体全成熟(图2)。

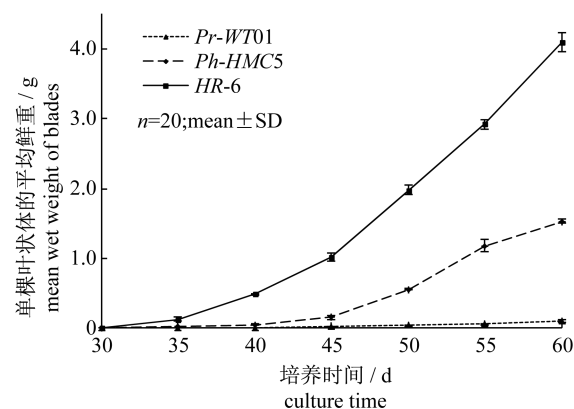


图1 优良品系(HR-6)和亲本品系(Pr-WT01, Ph-HMC5) F<sub>1</sub>叶状体的平均单裸鲜重

Fig. 1 The wet weight per F<sub>1</sub> gametophytic blade of the improved strain(HR-6) and the parental strains (Pr-WT01, Ph-HMC5)

表2 优良品系(HR-6)和亲本品系(Pr-WT01, Ph-HMC5) F<sub>1</sub>叶状体的生长率  
Tab. 2 Growth rates of the F<sub>1</sub> gametophytic blades of the improved strain(HR-6) and the parental strains(Pr-WT01, Ph-HMC5)

培养天数/d culture time	绝对生长率/(cm/d) absolute growth rate			特定生长率/(%/d) specific growth rate		
	Pr-WT01	Ph-HMC5	HR-6	Pr-WT01	Ph-HMC5	HR-6
31~35	0.39	1.15	6.58(16.87 <sup>a</sup> , 5.72 <sup>b</sup> )	0.12	0.18	0.18(1.50 <sup>c</sup> , 1.00 <sup>d</sup> )
36~40	0.33	1.66	8.79(26.64, 5.30)	0.07	0.12	0.12(1.71, 1.00)
41~45	0.29	2.14	9.27(31.97, 4.33)	0.04	0.09	0.08(2.00, 0.89)
46~50	0.37	3.81	6.61(17.86, 1.73)	0.05	0.10	0.04(0.80, 0.40)
51~55	0.27	5.24	4.07(15.07, 0.78)	0.03	0.09	0.02(0.67, 0.22)
56~60	0.20	2.37	1.78(8.90, 0.75)	0.02	0.03	0.01(0.50, 0.33)

注:a, c: 优良品系(HR-6)与父本品系(Pr-WT01)生长率的比值; b, d: 优良品系(HR-6)与母本品系(Ph-HMC5)生长率的比值

Notes: a, c: the ratio of the growth rates of HR-6 and Pr-WT01; b, d: the ratio of the growth rates of HR-6 and Ph-HMC5

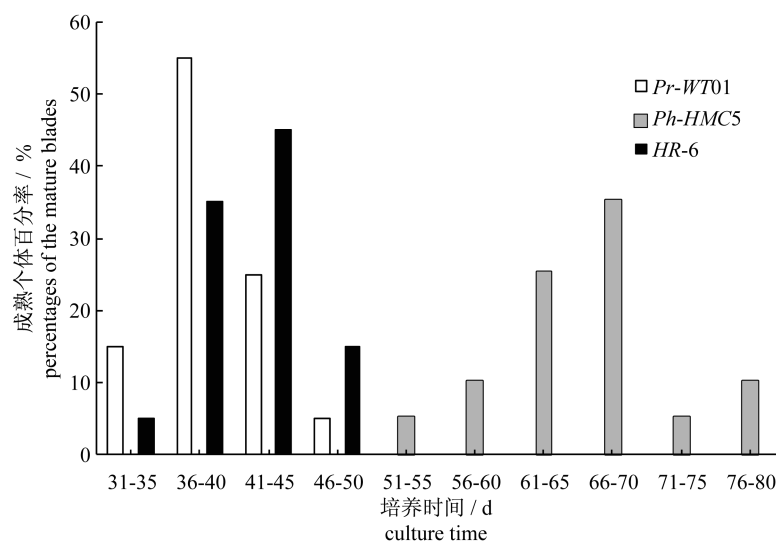


图2 优良品系(HR-6)和亲本品系(Pr-WT01, Ph-HMC5) F<sub>1</sub>叶状体的成熟个体百分率

Fig. 2 Percentages of the mature blades of the improved strain(HR-6) and the parental strains(Pr-WT01, Ph-HMC5)

## 2.4 优良品系 F<sub>1</sub> 叶状体的活体吸收光谱与主要色素蛋白含量

在波长 350 ~ 750 nm 之间, *HR-6* 品系和父母本品系叶状体的活体吸收光谱均存在 5 个明显的吸收峰, 但各吸收峰的峰值均是 *HR-6* 品系大于父母本品系 (图 3)。

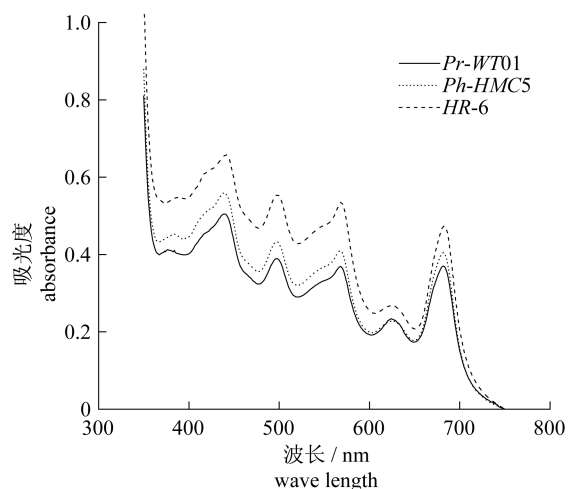


图 3 35 日龄的优良品系 (*HR-6*) 和亲本品系 (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) F<sub>1</sub> 叶状体的活体吸收光谱

Fig. 3 *In vivo* absorption spectra of F<sub>1</sub> gametophytic blades of the improved strain (*HR-6*) and the parental strains (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) after being cultured for 35 days

*HR-6* 品系的 Chl. *a* 含量为 9.43 mg/g, 而父、母本品系的 Chl. *a* 含量分别为 6.29 和 7.83 mg/g, 差异显著 ( $P < 0.05$ ) (图 4)。*HR-6* 品系的 RPE 含量为 63.33 mg/g, 比父、母本品系分别增加了 157% 和 50%; *HR-6* 品系的藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白含量高于亲本品系, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。*HR-6* 品系总藻胆蛋白含量为 99.62 mg/g, 是父本品系的 2.18 倍, 母本品系的 1.74 倍。

## 2.5 优良品系 F<sub>1</sub> 叶状体的厚度

*HR-6* 品系和亲本品系一样, F<sub>1</sub> 叶状体的不同部位其厚度不同, 均表现为基部 > 中部 > 梢部 (图 5)。但 3 个品系的梢部、中部、基部之间的差值很不同: 父本品系不同部位的藻体厚度差异很大, 母本品系不同部位的藻体厚度差异不大, 而 *HR-6* 品系不同部位的藻体厚度差异介于两个亲本品系之间。父、母本品系和 *HR-6* 品系的平均藻体厚度分别为 41.58、20.17 和 26.22  $\mu\text{m}$ , *HR-6* 品系的平均厚度接近母本品系。

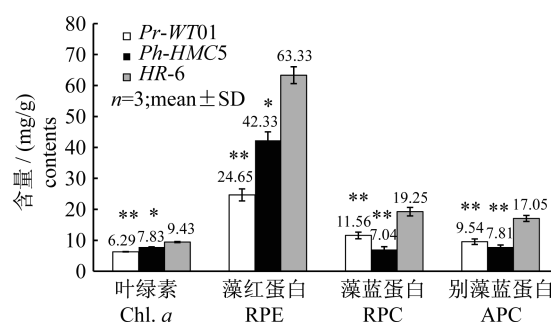


图 4 培养 35 d 的优良品系 (*HR-6*) 和亲本品系 (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) F<sub>1</sub> 叶状体的 Chl. *a*, RPE, RPC, APC 含量

\*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ , *t*-test); \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ , *t*-test), 下同

Fig. 4 Contents of Chl. *a*, RPE, RPC, APC in F<sub>1</sub> gametophytic blades of the improved strain (*HR-6*) and the parental strains (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) after being cultured for 35 days

\*\* highly significant difference ( $P < 0.01$ , *t*-test); \* significant difference ( $P < 0.05$ , *t*-test), the same as the following

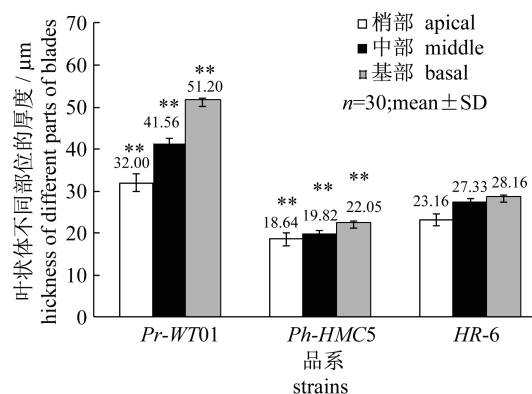


图 5 35 日龄的优良品系 (*HR-6*) 和亲本品系 (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) F<sub>1</sub> 叶状体不同部位的厚度

Fig. 5 Thickness of different parts of F<sub>1</sub> gametophytic blades of the improved strain (*HR-6*) and the parental strains (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) after being cultured for 35 days

## 2.6 优良品系贝壳丝状体的壳孢子放散量

3 个品系的贝壳丝状体的壳孢子放散难易程度不同: 父本品系在降温充气刺激后的第 16 天开始放散, 母本品系较难放散壳孢子, 至第 25 天才开始放散, 而 *HR-6* 品系则在第 5 天就开始大量放散。由图 6 可知, 3 个品系开始放散后的前 14 天的放散量较多, 之后放散量就很少, 并且在前 7 天均出现两个放散高峰。*HR-6* 品系在开始放散后

的第7天,壳孢子日放散量达最高,平均单壳放散量为53.31万个;父本在第6天壳孢子日放散量达最高,平均单壳放散量为46.48万个;母本在第4天壳孢子日放散量达到最高,平均单壳放散量为16.44万个。连续统计开始放散后的20 d内的壳孢子放散总量,结果如表3所示。*HR-6*品系的壳孢子放散总量达167.72万个/贝,与父本品系无显著性差异,是母本品系的2.65倍,差异性极显著( $P < 0.01$ )。

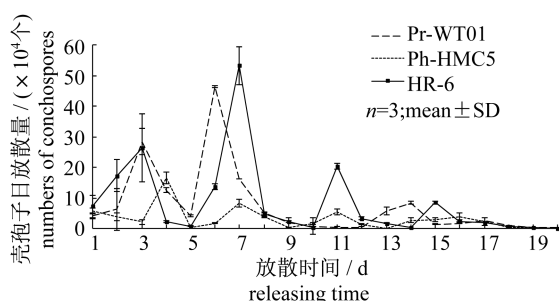


图6 优良品系(*HR-6*)和亲本品系(*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*)在23℃下连续20 d的日放散情况

Fig. 6 Numbers of conchospores daily released from the improved strain (*HR-6*) and the parental strains (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) during 20 days

表3 优良品系(*HR-6*)和亲本品系(*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*)在23℃下连续放散20 d的壳孢子放散总量  
Tab. 3 The total numbers of conchospores released from the improved strain (*HR-6*) and the parental strains (*Pr-WT01*, *Ph-HMC5*) at 23℃ during 20 days

品系 strains	壳孢子放散总量/( $\times 10^4$ 个) total numbers of conchospores			
	组1 group 1	组2 group 2	组3 group 3	平均值 $\pm$ 标准差 mean $\pm$ SD
<i>Pr-WT01</i>	160.82	148.44	134.43	147.90 $\pm$ 13.20 <sup>ns</sup>
<i>Ph-HMC5</i>	67.39	65.15	57.49	63.34 $\pm$ 5.19 <sup>**</sup>
<i>HR-6</i>	180.72	166.96	155.48	167.72 $\pm$ 12.64

注:ns表示无显著差异( $P > 0.05$ , *t*-test)

Notes: ns means no significant difference

### 3 讨论

本实验利用坛紫菜与印度产紫菜(*Pyropia radi*)的种间杂交选育出杂交重组优势品系*HR-6*,它的生长率、色素蛋白含量、藻体的厚度和韧性、壳孢子放散量等经济性性状均比父、母本品系优良,暗示紫菜种间杂交育种是可行的。该品系所表现出来的一些性状分别通过遗传重组来自亲本的一方但又比亲本优良,如生长速度、色素蛋白含

量和藻体厚度虽与母本品系相似,但远好于母本;另外,通过重组获得父本的部分性状,使藻体变厚,韧性增强,更加适合在流急浪大的海区栽培;壳孢子放散量大幅度增加也是由于重组了父本的性状。Wright<sup>[24]</sup>曾经指出每个性状都受多个基因的调控,一个基因发生变化就会影响多个性状的表现。纪德华等<sup>[25]</sup>对坛紫菜品系间杂交子代的ISSR分析结果表明,杂交使得坛紫菜的遗传多样性水平明显提高。对本研究报道的*HR-6*品系的杂交重组优势产生原因推测如下:第一,杂交亲本的分布区域相隔很远,生态环境因子差异非常大、亲本间的各种性状差异也很大,使得杂交子代中基因发生重组的概率大大增加,提高了杂交重组优势产生的概率;第二,杂交亲本间的性状差异互补性较大,使得多个性状得以重组优化,形成更好的性状。对于紫菜杂交重组优势形成的分子机理还有待于今后深入研究。

紫菜品质的好坏与光合色素及色素蛋白含量的高低有关,叶绿素含量的高低与藻体的生长速度密切相关<sup>[26]</sup>,色素蛋白质含量的高低也是衡量紫菜营养价值的重要指标之一<sup>[27]</sup>。在整个培养期间*HR-6*品系的生长优势明显,这与它的叶绿素*a*和藻胆蛋白含量高呈正相关。长宽比值是紫菜的重要性状之一,*HR-6*品系的叶状体长宽比最大时达72.53,使得藻体相当细长,这在一定程度上也体现出它快速生长的特性,栽培时有利于收割。野生型的条斑紫菜叶状体平均厚度在34.49  $\mu\text{m}$ <sup>[28]</sup>,而本实验选育出来的优良品系*HR-6*的平均厚度仅为26.22  $\mu\text{m}$ ,比野生型条斑紫菜还薄,使得该品系的栽培叶状体具有被加工成合格四方形菜饼的优势。

为了确保紫菜新品种的优良性状不退化或延缓退化速度,在使用紫菜新品种时一般要求采用自由丝状体移植技术来培育新品种贝壳丝状体,但用自由丝状体移植技术育成的贝壳丝状体的壳孢子放散量比用果孢子采苗育成的贝壳丝状体要少,这就造成秋季采壳孢子进行海上栽培时需要更多的贝壳丝状体,增加养殖户的成本<sup>[10]</sup>。所以,一个紫菜新品种能否得到大面积推广,除了它的优良性状外,壳孢子放散量成为一个很重要的因素。本研究选育出来的*HR-6*品系其壳孢子放散量大,单壳在连续20 d的壳孢子放散总量可达167.72万个,可以极大地满足生产需求。

HR-6 品系不仅生长快、品质好、厚度薄、韧性好,而且壳孢子放散量多,具有很好的生产适用性,表现出很大的应用栽培前景。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Sutherland J E, Lindstrom S C, Nelson W A, *et al.* A new look at an ancient order: Generic revision of the Bangiales (Rhodophyta) [ J ]. *Journal of Phycology*, 2011, 47 ( 5 ): 1131 - 1151.
- [ 2 ] Ma J H, Cai S Q. Cultivation and process 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. ]
- [ 3 ] You H. The present situation of breeding and development countermeasures in *Porphyra haitanensis* of Pingtan County [ J ]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1999, 26 ( 6 ): 272 - 273. [ 游华. 平潭县坛紫菜养殖现状与发展对策. 水产科技情报, 1999, 26 ( 6 ): 272 - 273. ]
- [ 4 ] 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. ]
- [ 5 ] Yan X H, Chen M. Selection of low-salinity resistant improved varieties in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [ J ]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, 17 ( 3 ): 316 - 320. [ 严兴洪, 陈敏. 坛紫菜耐低盐优良品系的筛选. 上海水产大学学报, 2008, 17 ( 3 ): 316 - 320. ]
- [ 6 ] Liu P J, Ji D H, Xie C T, *et al.* Study on selection of low N and P resistant strains in *Porphyra haitanensis* [ J ]. *Journal of Jimei University*, 2009, 14 ( 2 ): 109 - 114. [ 柳佩娟, 纪德华, 谢潮添, 等. 坛紫菜耐低氮磷品系选育的研究. 集美大学学报, 2009, 14 ( 2 ): 109 - 114. ]
- [ 7 ] 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.
- [ 8 ] Fu C H, Yan X H, Huang L B, *et al.* The releasing and high-temperature resistance of conchospores from an improved strain in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [ J ]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42 ( 3 ): 460 - 466. [ 付春辉, 严兴洪, 黄林彬, 等. 条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 选育品系壳孢子的放散量与耐高温性研究. 海洋与湖沼, 2011, 42 ( 3 ): 460 - 466. ]
- [ 9 ] Wang H Z, Yan X H, Li L. Selection and characterization of a high-temperature resistant strain of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [ J ]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 43 ( 2 ): 363 - 369. [ 王华芝, 严兴洪, 李琳. 条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 耐高温品系的筛选及特性分析. 海洋与湖沼, 2012, 43 ( 2 ): 363 - 369. ]
- [ 10 ] 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. ]
- [ 11 ] He P M, Qin S, Yan X J, *et al.* Seaweed biological technology and its application [ M ]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 86 - 98. [ 何培民, 秦松, 严晓军, 等. 海藻生物技术及其应用. 北京: 化学工业出版社, 2007: 86 - 98. ]
- [ 12 ] Wang F X, Xie C T, Chen C S, *et al.* Study on chimeras and breeding from hybridization of the breen-type and the wild-type *Porphyra haitanensis* [ J ]. *Journal of Jimei University*, 2010, 15 ( 1 ): 1 - 6. [ 王凤霞, 谢潮添, 陈昌生, 等. 褐绿色型与野生色型坛紫菜杂交产生嵌合体及其选育. 集美大学学报, 2010, 15 ( 1 ): 1 - 6. ]
- [ 13 ] Xia R B. The study on the rice cross-breeding in contemporary China [ J ]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27 ( 1 ): 11 - 16. [ 夏如兵. 中国近代的水稻杂交育种研究. 中国农学通报, 2011, 27 ( 1 ): 11 - 16. ]
- [ 14 ] Xu Y, Chen C S, Xie C T, *et al.* Preliminary evaluation of hybridized strains of *Porphyra haitanensis* [ J ]. *Marine Fisheries Research*, 2008, 29 ( 1 ): 62 - 69. [ 徐燕, 陈昌生, 谢潮添, 等. 坛紫菜杂物品系优势的初步评价. 海洋水产研究, 2008, 29 ( 1 ): 62 - 69. ]
- [ 15 ] Liu H Y, Li L, Yan X H. Study on the interspecies cross between *Pyropia haitanensis* and *Pyropia radi* [ J ]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22 ( 6 ): 882 - 887. [ 刘海洋, 李琳, 严兴洪. 坛紫菜与 *Pyropia radi* 的种间杂交实验. 上海海洋大学学报, 2013, 22 ( 6 ): 882 - 887. ]
- [ 16 ] Zhang Y Y, Yan X H. Biological characteristics and

- a part life-cycle of *Pyropia radi* (Bangiales, Rhodophyta) from India [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2014, 45(1): 51 - 57. [张岩岩, 严兴洪. 一种印度产紫菜(*Pyropia radi*)的生物学特性及部分生活史. 海洋与湖沼, 2014, 45(1): 51 - 57.]
- [17] Wang S J, Zhang X P, Xu Z D, et al. A study on the cultivation of the vegetative cells and protoplasts of *P. haitanensis* I [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1986, 17(3): 217 - 221. [王素娟, 张小平, 徐志东, 等. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 I. 海洋与湖沼, 1986, 17(3): 217 - 221.]
- [18] Yan X H, Li L, Chen J H, et al. Parthenogenesis and isolation of genetic pure strains in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *High Technology Letters*, 2007, 17(2): 205 - 210. [严兴洪, 李琳, 陈俊华, 等. 坛紫菜的单性生殖与遗传纯系分离. 高技术通讯, 2007, 17(2): 205 - 210.]
- [19] 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.
- [20] Stein J R. Handbook of phycological methods; culture methods and growth measurements [M]. London: Cambridge University Press, 1973: 289 - 311.
- [21] 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.
- [22] 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.]
- [23] Fujian province administration. Artificial cultivation of *Porphyra haitanensis* [M]. Fuzhou: Fujian People Press, 1979: 67. [福建省水产局. 坛紫菜人工养殖. 福州: 福建人民出版社, 1979: 67.]
- [24] Wright S. Evolution and the genetics of populations; Genetic and biometric foundations [M]. Chicago: University of Chicago Press, 1968: 55 - 107.
- [25] Ji D H, Xie C T, Xu Y, et al. ISSR analysis on the heterosis in hybrids of *Porphyra haitanensis* [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2008, 30(6): 147 - 153. [纪德华, 谢潮添, 徐燕, 等. 坛紫菜品系间杂交子代杂种优势的 ISSR 分析. 海洋学报, 2008, 30(6): 147 - 153.]
- [26] Ji D H, Xie C T, Shi X Z, et al. Analysis of the major quality traits in wild *Porphyra haitanensis* of Fujian coast [J]. *Journal of Jimei University*, 2011, 16(6): 401 - 406. [纪德华, 谢潮添, 史修周, 等. 福建沿海野生坛紫菜主要品质性状分析. 集美大学学报, 2011, 16(6): 401 - 406.]
- [27] Ma J H, Zhang L M, Ji C L, et al. On the refrigerated nets of *Porphyra yezoensis* and quality analysis of produce [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1998, 22(suppl.): 65 - 71. [马家海, 张礼明, 吉传礼, 等. 条斑紫菜冷藏网试验及其产品质量分析. 水产学报, 1998, 22(增刊): 65 - 71.]
- [28] Zhang B L. Isolation and characterization of heat-resistant strains in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2009: 35. [张秉磊. 条斑紫菜耐高温品系的筛选. 上海: 上海海洋大学, 2009: 35.]



## Selection and characterization of an improved strain produced by genetic recombinant of interspecific hybridization between *Pyropia haitanensis* and *Pyropia radi*

WU Hongxiao<sup>1</sup>, YAN Xinghong<sup>1,2\*</sup>, SONG Wulin<sup>3,4</sup>, LIU Yanfei<sup>4</sup>, LIU Changjun<sup>5</sup>, WANG Tiegan<sup>6</sup>

(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;

3. Fujian Marine Economic Operation Monitoring and Assessment Centre, Fuzhou 350003, China;

4. Fujian Fisheries Technical Extension Center, Fuzhou 350003, China;

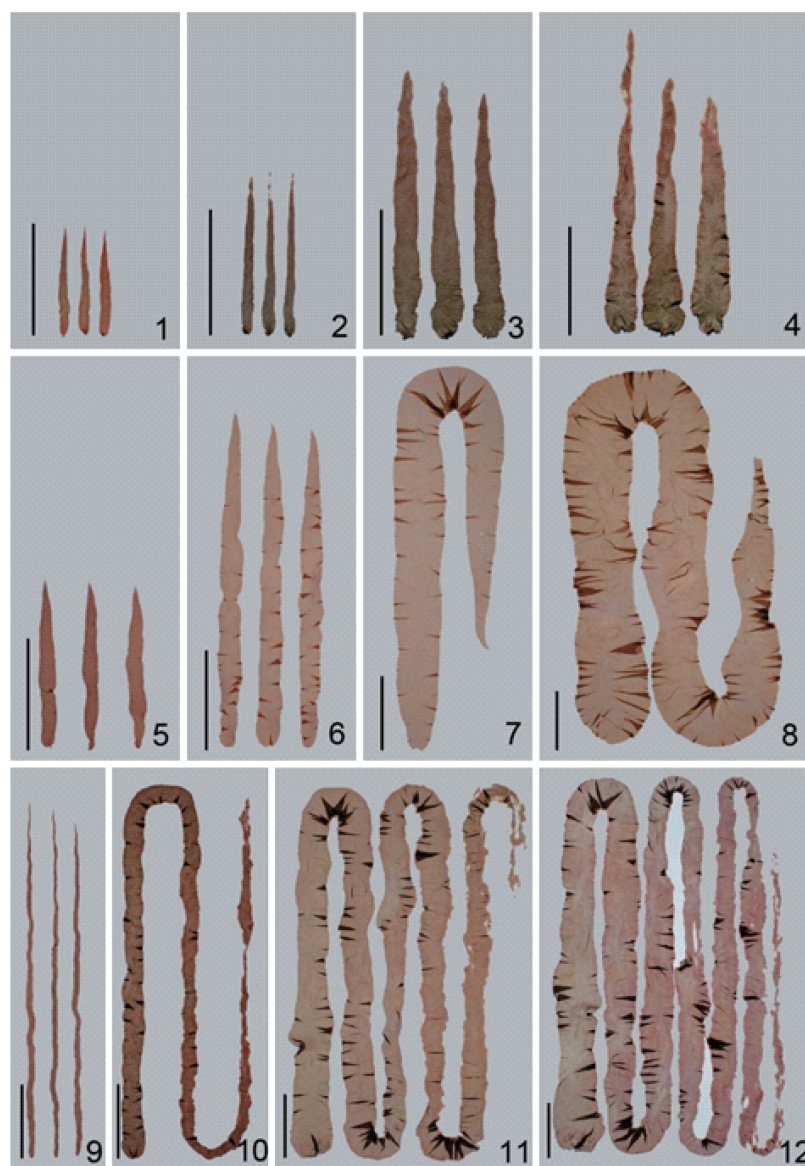
5. Xiangshan Fisheries Technical Extension Center, Xiangshan 315700, China;

6. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325000, China)

**Abstract:** In this paper, a crossing-experiment between *Pyropia radi* from India and *Pyropia haitanensis* from China was done for breeding of improved strains with obvious hybrid recombinant advantages. The male parent was the wild-type strain (*Pr-WT01*) of *P. radi*, which was characterized by thick blade, slow growing, good toughness and high production of conchospores, and the female parent was the mutation strain (*Ph-HMC5*) of *P. haitanensis*, which was characterized by thin blade, fast growing, poor toughness and low production of conchospores. At first, four improved strains with obvious hybrid recombinant advantages were obtained from the F<sub>1</sub> color-sectored blades, and finally the most improved strain (*HR-6*) was selected from them. The maximum of absolute growth rate of the male and female parents were 0.39 and 5.24 cm/d, respectively, while that of *HR-6* strain was 9.27 cm/d and its absolute growth rate was greater than the maximum growth rate of the female parent during 30–50 days in culture. After 60 days in culture, the mean length of F<sub>1</sub> blades of the male and female parents were 13.18 cm and 85.67 cm, respectively, while that of *HR-6* strain was 218.57 cm which was 2.55 times that of the female parent and 16.58 times that of the male parent, respectively. The contents of Chl. *a* in the 35-day-old blades of *HR-6* strain was 9.43 mg/g, increasing by 50% and 20% in contrast with that of the male parent and the female parent, respectively. The content of phycobiliprotein of *HR-6* strain was 99.62 mg/g, which was 1.74 times that of the female parent and 2.18 times that of the male parent, respectively. The mean thickness of the 35-day-old blades of *HR-6* strain was 26.22 μm, decreasing by 37% in contrast with that of the male parent and increasing by 30% in contrast with that of the female parent, and the toughness of the F<sub>1</sub> blades of *HR-6* strain increased significantly. The total number of conchospores released from *HR-6* strain was  $167.72 \times 10^4$ , which was 2.65 times that of the female parent and 1.13 times that of the male parent, respectively. The above results confirmed that *HR-6* was characterized by fast growth, high quality, large amount of conchospores, having excellent production applicability.

**Key words:** *Pyropia haitanensis*; *Pyropia radi*; interspecific hybridization; recombinant strain; growth rate; photosynthetic pigments

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



图版 优良品系 (*HR-6*) 和亲本品系 (印度产紫菜野生品系 *Pr-WT01*, 坛紫菜诱变品系 *Ph-HMC5*) 的  $F_1$  叶状体

1~4. 父本品系 (印度产紫菜野生品系 *Pr-WT01*) 的  $F_1$  叶状体, 培养天数分别为 30、40、50 和 60 d; 5~8. 母本品系 (坛紫菜诱变品系 *Ph-HMC5*) 的  $F_1$  叶状体, 培养天数分别为 30、40、50 和 60 d; 9~12. 优良品系 (*HR-6*) 的  $F_1$  叶状体, 培养天数分别为 30、40、50 和 60 d. 图中标尺 1、2 为 2.5 cm, 其余为 5 cm

**Plate The  $F_1$  gametophytic blades of the improved strain (*HR-6*) and the parental strains (*Pr-WT01* of *Pyropia radi*, *Ph-HMC5* of *Pyropia haitanensis*)**

1-4. the  $F_1$  gametophytic blades of the male parental strain (*Pr-WT01*) of *Pyropia radi* after being cultured for 30, 40, 50 and 60 d; 5-8. the  $F_1$  gametophytic blades of the female parental strain (*Ph-HMC5*) of *Pyropia haitanensis* after being cultured for 30, 40, 50 and 60 d; 9-12. the  $F_1$  gametophytic blades of the improved strain (*HR-6*) after being cultured for 30, 40, 50 and 60 d; scale bar in figures 1 and 2 was 2.5 cm, the rest of the scale bar was 5 cm