

条斑紫菜双单倍体群体主要经济性状的遗传分析

黄林彬, 严兴洪*

(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: 条斑紫菜叶状体主要经济性状的遗传参数及相互间的遗传关系, 是开展分子育种的基础。实验以条斑紫菜野生型品系(Py-WT2, 父本)和红色突变型品系(Py-HT, 母本)杂交后产生的杂合丝状体为材料, 构建由152个品系组成的条斑紫菜双单倍体(DH)群体。该群体叶状体的6个经济性状(L50、W50、FW50、SGR-L、SGR-W、SGR-FW)的表型值用单样本Kolmogorov-Smirnov检验。结果发现, 各性状均为数量性状。L50和SGR-W为超亲遗传性状, 其余4个性状的变异介于双亲之间, 其中W50偏向于母本, FW50、SGR-L和SGR-FW偏向于父本。6个性状的变异系数介于21.11%~56.68%, 均属中等强度变异。相关性分析表明, L50、W50和FW50相互之间均存在极显著正相关性, SGR-L、SGR-W和SGR-FW相互之间也存在极显著正相关性。利用单因素方差分析法估算出L50、W50和FW50的遗传力分别为58.17%、64.00%和57.64%, 控制3个性状的基因对数分别为6.61、12.63和8.09, 遗传力(y)与基因对数(x)的二次回归方程为 $y=0.2922x^2-4.6533x+76.162(R^2=1)$ 。基因间互作方式的检测结果显示, 控制L50和控制FW50的多基因间均分别不存在互作; 控制W50和控制SGR-W的多基因间均分别存在互补作用; 控制SGR-L和控制SGR-FW的多基因间均分别存在重叠作用。研究表明, 条斑紫菜叶状体L50和FW50的遗传力高、基因对数少且基因间无互作, 可进行早代选择。另外, L50、W50和FW50之间的相关性高, 可进行间接选择以提高育种效率。

关键词: 条斑紫菜; 双单倍体; 数量性状; 遗传分析

中图分类号: S 968.4

文献标志码: A

条斑紫菜(*Pyropia yezoensis*)是我国重要的经济海藻之一, 主要在江苏省沿海被大规模栽培, 其产量约占我国紫菜总产量的25%, 但其产值却与我国南方栽培的、产量约占75%的坛紫菜(*P. haitanensis*)的相当。目前, 条斑紫菜产业已基本形成完整的体系, 并产生巨大的经济效益和生态效益^[1]。然而, 相对于产业的发展与完善, 条斑紫菜基础遗传学和数量性状的研究则较迟滞, 相关的遗传作图群体也尚未构建。双单倍体(double haploid, DH)是由单倍体经染色体加倍后形成的纯合二倍体^[2], 适合于构建永久性作图

群体, 且其用于遗传作图时的效率高^[3-4]。在数量性状遗传分析中, DH群体可在不同的实验室、年份和地点多次使用, 从而降低环境误差, 保证实验和分析的准确性, 是研究基因型和环境互作的理想材料^[5-6]。在育种领域, 通过诱导DH可直接获得遗传纯系以固定优良品系的性状, 从而缩短育种周期。目前, DH群体已在小麦、水稻和玉米等高等植物的遗传学和育种研究中广泛应用^[7-8], 但在海藻中的应用则较少^[9-11]。

本实验以北太平洋西部特有的条斑紫菜为研究对象, 以2个藻体颜色不同的品系的杂交后

收稿日期: 2016-12-14 修回日期: 2017-05-16

资助项目: 国家自然科学基金(31302185); 国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A411)

通信作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

代为材料,首次构建条斑紫菜DH群体。通过测定该群体的多个经济性状,获得遗传参数,并对各性状相互间的遗传关系进行评估,以期为紫菜的遗传育种提供新的思路。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

条斑紫菜野生型品系Py-WT2和红色突变型品系Py-HT均来源于Py-WT品系(LS001)^[12],具体过程:诱导Py-WT叶状体放散的一个单孢子发育成的叶状体自交,挑选由一个纯合果孢子萌发的纯合丝状体,建立野生型品系Py-WT2;另外,Py-WT叶状体经辐射诱变后分离出耐高温型的纯合品系B4^[13],B4叶状体经辐射诱变后分离出红色且耐高温的纯合品系Py-HT^[14]。以Py-WT2的叶状体作为父本、Py-HT的叶状体作为母本进行种内杂交,获得杂合丝状体,并以该杂合丝状体的F₁叶状体中的四嵌合类型叶状体作为构建条斑紫菜DH群体的材料。种内杂交的方法见文献[15-16],各品系均以自由丝状体的形式被保存于实验室内^[17]。

1.2 条斑紫菜DH群体的构建

取一定量的杂合丝状体,按照Yan等^[18]的方法获得壳孢子并将其培养成叶状体。在倒置显微镜下检查并挑选4个嵌合色块均正常发育的叶状体(日龄20~25 d),分别进行单棵培养。待叶状体长度达到2 cm左右时,用刀片将4个色块切割分离后,每个色块单独被培养。利用条斑紫菜叶状体雌雄同体且自体受精的特性,获得每个色块叶状体放散的纯合果孢子,并挑选由单个纯合果孢子萌发形成的纯合丝状体。一个嵌合色块的纯合丝状体即为一个DH品系。最终,由每一棵四色块嵌合叶状体上每一个嵌合色块的纯合丝状体组成条斑紫菜DH群体。由于该DH群体最终将用于遗传连锁图谱的构建,为了保证作图效率,该群体的大小选择在150个左右^[4],故在本实验中应至少选择38棵四嵌合叶状体用于群体构建。

1.3 条斑紫菜杂交亲本和DH品系的叶状体经济性状的测定

分别获得双亲和各DH品系的壳孢子并附着于维尼纶单丝上,用吸水纸吸干单丝上的水分

后直接冻存于-20℃待用。由于室内培养空间的限制,双亲和各DH品系的壳孢子在相同的条件下被分批培养。将附有壳孢子的维尼纶单丝从-20℃冰箱中取出后,直接放入含有250 mL培养液的小号充气瓶中培养,温度为(19±1)℃,光照密度为28~30 μmol photons/(m²·s),光照周期为10L:14D,每隔10 d更换50%(V/V)培养液^[19];培养至日龄30 d时将长成的小叶状体从维尼纶单丝上分离下来,随机选取100棵完整的小叶状体转移至含有500 mL培养液(包含250 mL原小号充气瓶中的旧培养液和250 mL新鲜培养液)的中号充气瓶中培养,光照密度提高至38~40 μmol photons/(m²·s);至日龄35 d时随机选择50棵叶状体继续培养,并更换50%(V/V)培养液;至日龄40 d时随机选择30棵叶状体用于经济性状的调查。

测定每棵叶状体在日龄40 d时的长度(blade length on the 40th day, L40)、宽度(blade width on the 40th day, W40)和湿重(blade fresh weight on the 40th day, FW40),随后将叶状体转移至含有1000 mL培养液(包含500 mL原中号充气瓶中的旧培养液和500 mL新鲜培养液)的大号充气瓶中培养,光照密度继续提高至48~50 μmol photons/(m²·s),每隔3 d更换50%(V/V)培养液,至日龄50 d时结束培养。测定每棵叶状体在日龄50 d时的长度(blade length on the 50th day, L50)、宽度(blade width on the 50th day, W50)和湿重(blade fresh weight on the 50th day, FW50)。测定宽度时,将叶状体平铺在塑料板上,以最宽处为准。测定湿重时,先用吸水纸吸干叶状体表面的水分,再立即在电子天平上称量。双亲的性状测定实验设置3次重复;DH群体的品系数量超过150个,故不设置重复。每个品系用于性状测定的样本均为30棵叶状体。

根据叶状体在日龄40和50 d时的长度、宽度和湿重,计算DH群体叶状体在日龄40~50 d的特定生长率,包括叶状体长度的特定生长率(specific growth rate of blade length, SGR-L)、宽度的特定生长率(specific growth rate of blade width, SGR-W)和湿重的特定生长率(specific growth rate of blade fresh weight, SGR-FW)。以SGR-L的计算公式为例:
$$\text{SGR-L}(\%) = \frac{\ln(L50) - \ln(L40)}{n} \times 100$$
 ,其中ln为自然对数, L50为日龄50 d时叶状体的长度, L40为日龄40 d时叶状体的长度, n为2次测定间隔的天数。SGR-W和SGR-FW的计算同SGR-L。

1.4 统计分析

获得的原始数据先用Excel 2016处理, 计算平均值(mean)、标准差(SD)和中亲值(双亲值的均值)等, 再将L50、W50、FW50、SGR-L、SGR-W和SGR-FW等6个性状的数据导入SPSS 19.0中进行统计分析^[20-21]。双亲和DH群体叶状体的性状表型值以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 双亲叶状体各性状间的差异采用独立样本 t 检验分析。DH群体叶状体各性状表型值的频数分布采用单样本Kolmogorov-Smirnov检验, 当 $P_{ks} > 0.05$ 时说明数据符合正态分布。各性状表型值的变异系数(coefficient of variation, $C \cdot V$)的计算公式: $C \cdot V(\%) = \frac{\text{SD}}{\text{mean}} \times 100$, 各性状相互之间的关系采用双变量相关性分析。

数量性状遗传力和基因对数的估算 性状表型值的获取采用“F个家系、B次重复、单株小区”实验设计^[22]。利用单因素方差分析法^[20], 计算出组内(DH品系内的30棵叶状体之间, V_1)和组间(DH品系之间, V_2)的方差, 再计算得到遗传方差(V_g)和环境方差(V_e), 求得各性状的遗传力^[22]。根据文献^[23]中的公式, 估算控制数量性状L50、W50和FW50的基因对数(k): $k = \frac{(L - m)^2}{V_g}$, 其中 L 和 m 分别为DH群体中不同品系间某数量性状表型值的极端值和均值。极端值 L 的判定方法: 将表型值的最大值和最小值分别减去均值, 差值的绝对值大的被定义为极端值^[23]。

控制数量性状的多基因间互作方式的分析通过SPSS 19.0的频率模块或文献中的公式计算偏度系数(Skewness coefficient, g_1)和峰度系数(Kurtosis coefficient, g_2), 并分析互作类型^[24-25]。

2 结果

2.1 条斑紫菜DH群体的构建

从杂合丝状体的 F_1 嵌合叶状体中挑选出57棵4个嵌合色块均正常发育的叶状体, 将每棵四嵌合叶状体上的4个色块切割分离后单独培养, 从而获得每个色块的纯合丝状体(DH品系)。其中, 有19棵四嵌合叶状体均存在1~2个色块无法获得丝状体的情况, 故所得到的DH品系不用于组成本研究的DH群体; 另外的38棵四嵌合叶状体上的每个色块(共152个色块)通过培养都成功获得纯合丝状体, 故由这152个色块的纯合丝状体组成本研究的DH群体。

2.2 叶状体性状的表型变异及性状间的相关性分析

杂交亲本(2个)和DH群体各品系(152个)叶状体各性状的表型变异见表1。两个独立样本 t 检验分析表明: L50在双亲间存在显著差异($P < 0.05$), W50和FW50分别存在极显著差异($P < 0.01$), 而SGR-L、SGR-W和SGR-FW分别均无显著性差异($P > 0.05$)。DH群体叶状体6个性状的 P_{ks} 值均大于0.05, 表明各性状值在152个品系间呈正态分布, 符合数量性状连续变异的特征, 可利用统计学进行遗传分析^[21, 26]。6个性状表型值的频率分布见图1。

DH群体叶状体有4个表型性状值介于双亲间, 其中W50偏向于小值亲本(母本), FW50偏向于大值亲本(父本), SGR-L和SGR-FW偏向于小值亲本(父本); 而L50和SGR-W表现为超亲遗传, 其中L50小于小值亲本(母本), 而SGR-W大于大

表 1 条斑紫菜杂交亲本和DH群体叶状体6个性状的表型变异

Tab. 1 Phenotypic variation of six traits of gametophytic blades of the parents and DH population in *P. yezoensis*

性状 character	亲本均值 mean of parent		t 值 t -value	中亲值 mid-parent value	DH群体 DH population		
	♀	♂			均值mean	$C \cdot V/\%$	P_{ks}
L50/cm	9.52±2.89	10.51±3.39	-2.11*	10.02±2.02	9.50±3.01	31.66	0.95
W50/cm	0.49±0.14	0.87±0.36	-9.41**	0.69±0.21	0.64±0.18	28.32	0.75
FW50/mg	9.14±4.46	19.67±10.80	-8.55**	14.40±6.06	15.48±8.78	56.68	0.33
SGR-L/%	13.84±1.12	12.41±1.94	1.10	13.12±1.48	13.05±2.75	21.11	0.75
SGR-W/%	10.54±0.96	10.28±1.30	0.28	10.41±1.07	10.58±2.29	21.66	0.63
SGR-FW/%	25.10±3.53	23.44±2.88	0.63	24.27±3.04	24.07±5.17	21.49	0.07

注: **表示差异极显著($P < 0.01$); *表示差异显著($P < 0.05$), 下同

Notes: ** means highly significant difference ($P < 0.01$); * means significant difference ($P < 0.05$), the same below

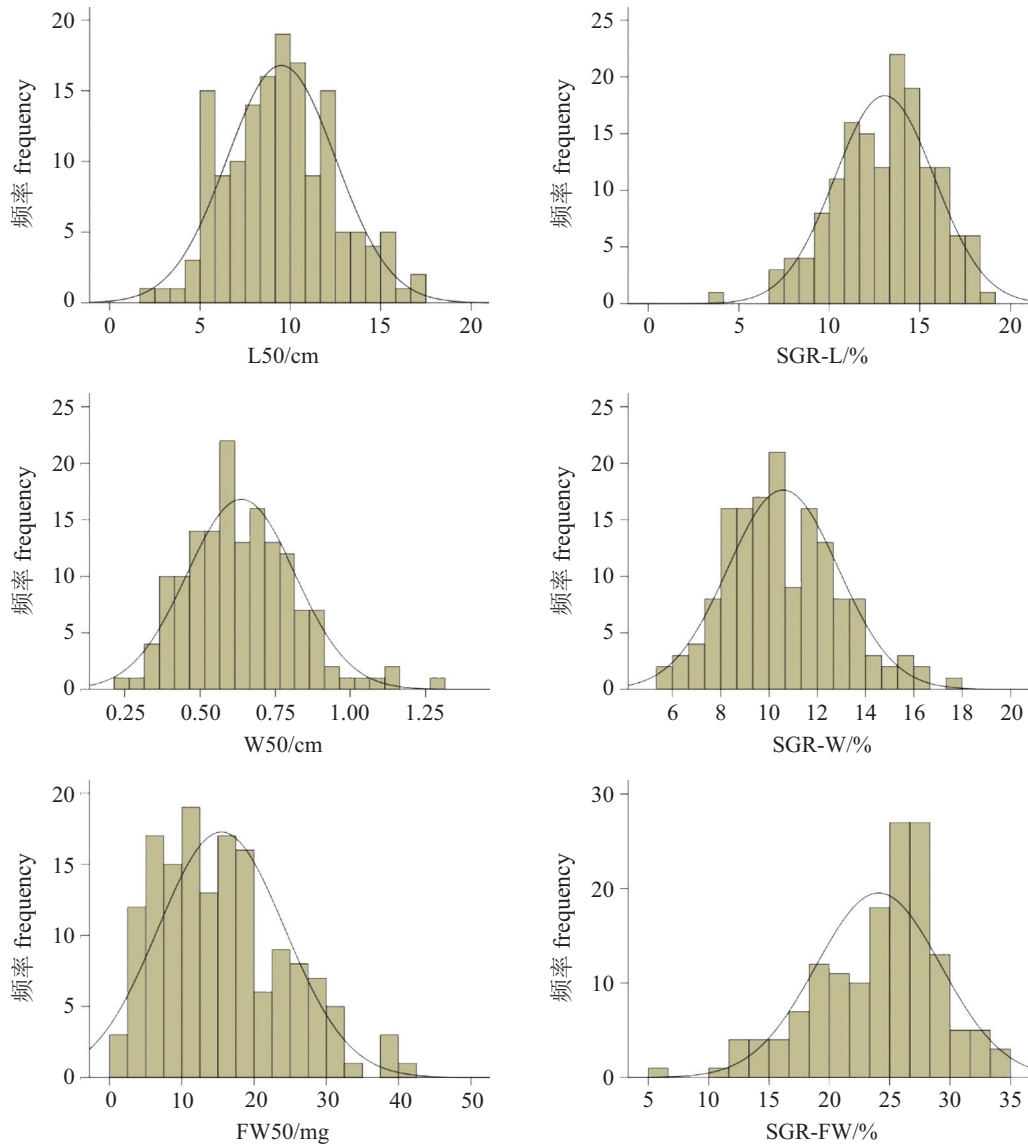


图 1 条斑紫菜DH群体叶状体6个表型性状值的频率分布图

Fig. 1 Frequency distribution of values of six phenotypic traits of gametophytic blades of DH population in *P. yezoensis*

值亲本(母本)。DH群体叶状体的6个性状的变异系数均大于20%，属中等强度变异，其中FW50的变异系数最大(表1)。

双变量相关性分析结果(表2)显示：L50、W50和FW50等3个性状互相之间均呈极显著正相关性，SGR-L、SGR-W和SGR-FW等3个性状互相之间也呈极显著正相关性，表明在育种过程中可通过选择叶状体长度或宽度有优势的品系，来选育湿重有优势的品系。另外，L50、W50和FW50等3个性状分别与SGR-L、SGR-W和SGR-FW等3个性状间互相呈负相关性，表明在本实验中，虽然叶状体的长度、宽度和湿重在日龄40~50 d不断增加，但是对应的特定增长率都已开始

表 2 条斑紫菜DH群体叶状体6个数量性状的相关性分析

Tab. 2 Correlation of six quantitative traits of gametophytic blades of DH population in *P. yezoensis*

性状 trait	L50	W50	FW50	SGR-L	SGR-W	SGR-FW
L50	1					
W50	0.40**	1				
FW50	0.72**	0.72**	1			
SGR-L	-0.18*	-0.31**	-0.51**	1		
SGR-W	-0.40**	-0.28**	-0.59**	0.82**	1	
SGR-FW	-0.15	-0.17*	-0.38**	0.71**	0.75**	1

Notes: n=152

下降, 这符合紫菜叶状体生长的一般规律^[27-30]。

2.3 条斑紫菜DH群体叶状体数量性状的遗传力及基因对数的估算

对152个DH品系, 每个品系30棵叶状体的L50、W50和FW50的性状表型值用SPSS 19.0进行

单因素方差分析, 获得每个性状表型值的组间方差(V_1)和组内方差(V_2), 分别为271.43和6.36(L50)、0.98和0.02(W50)、2310.83和55.25(FW50)。利用遗传力估算公式得出叶状体L50、W50和FW50的遗传力分别为58.17%、64.00%和57.64%(表3), 表明3个性状的遗传力均较高。

表 3 条斑紫菜DH群体叶状体3个数量性状的遗传力及基因对数

Tab. 3 Heritability and number of genes controlling the three quantitative traits of gametophytic blades of DH population in *P. yezoensis*

性状 trait	方差 variance			遗传力/% heritability	极端值/cm extreme value	基因对数 no. of genes
	V_1	V_2	V_g			
L50	271.43	6.36	8.84	58.17	17.14	6.61
W50	0.98	0.02	0.03	64.00	1.27	12.63
FW50	2310.83	55.25	75.19	57.64	40.14	8.09

注: V_1 、 V_2 和 V_g 分别代表组内、组间和遗传方差

Notes: V_1 , V_2 and V_g represented within-group, between-group and genetic variance, respectively

实验结果显示, 估算出的控制条斑紫菜DH群体叶状体L50、W50和FW50的基因对数分别为6.61、12.63和8.09。将性状的遗传力和基因对数做多项式回归分析, 发现遗传力(y)与基因对数(x)的关系呈二次曲线分布, 且拟合优度为1(图2), 说明该回归模型可以很好地解释这2个参数之间的关系。

2.4 控制叶状体性状的多基因间的互作方式分析

根据条斑紫菜DH群体6个数量性状的偏度系数(g_1)和峰度系数(g_2)的估算结果(表4): L50和

FW50的 g_2 均小于0, 说明控制L50和控制FW50的多基因间均分别无互作; 其余4个性状的 g_2 均大于0, 说明控制这些性状的多基因间均分别存在互作。W50和SGR-W的 g_1 均大于0, 说明控制W50和控制SGR-W的多基因间均存在互补作用; SGR-L和SGR-FW的 g_1 均小于0, 说明控制SGR-L和控制SGR-FW的多基因间均分别存在重叠作用。

表 4 条斑紫菜DH群体叶状体6个数量性状的偏度系数(g_1)和峰度系数(g_2)

Tab. 4 Coefficients of skewness and kurtosis (g_1 and g_2) of six quantitative traits of gametophytic blades of DH population in *P. yezoensis*

系数 coefficient	L50	W50	FW50	SGR-L	SGR-W	SGR-FW
g_1	0.26	0.58	0.66	-0.36	0.47	-0.69
g_2	-0.30	0.66	-0.06	0.08	0.09	0.46

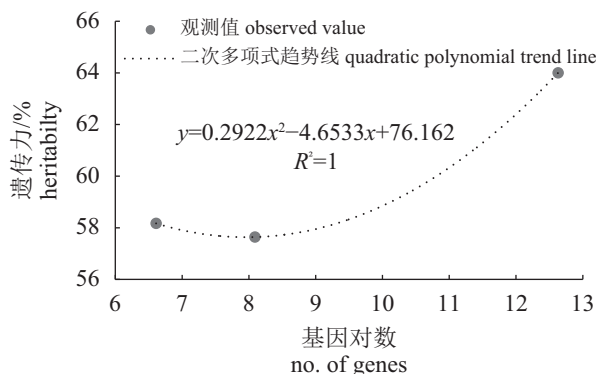


图 2 条斑紫菜DH群体叶状体3个数量性状的遗传力(y)与基因对数(x)的回归曲线

Fig. 2 The regression curve between heritability (y) and number of genes (x) of the three quantitative traits of gametophytic blades of DH population in *P. yezoensis*

3 讨论

紫菜属的生活史为异型世代交替^[31], 供食用的部分是其单倍的配子体(叶状体), 故在育种时一般主要考察叶状体的性状^[16, 30]。然而, 叶状体不适合长期保存, 故其种质是以二倍的孢子体(丝状体)的形式进行保存的^[10, 16-17, 32]。这与高等植物单倍体育种中的种质保存方法一致^[5], 即永久保存单倍体的唯一方法是对整套单倍染

染色体进行加倍以得到双单倍体(DH)。因为DH各基因位点均为纯合位点,其后代的性状不会发生分离,所以DH是最理想的一种种质保存方式。另外,在紫菜良种推广栽培的过程中,使用DH可保证不同年份所使用的栽培种质的一致性,从而能起到稳产的作用^[33]。

在遗传作图领域,DH群体的遗传结构直接反映 F_1 配子中基因分离和重组,一般使用2个纯合亲本的杂交才能构建。相对于坛紫菜来说,条斑紫菜的杂交难度较大,主要是因为二者具有不同的性别决定机制^[34-35]:坛紫菜叶状体的性别属于早期决定,每个细胞的性别在减数分裂后即已确定,故能分离到雌性或雄性的叶状体作为杂交亲本;而条斑紫菜叶状体的性别为后期分化,其雌雄生殖细胞总是混杂生长。因此,在条斑紫菜的杂交过程中,亲本叶状体既可放散精子(作为父本),又可形成果胞(作为母本),故从某一亲本叶状体上的果孢子囊放散的果孢子中,既有自交产生的纯合果孢子,也有杂交产生的杂合果孢子,这给杂交鉴定造成了较大的困难。紫菜色素突变体的应用,使得杂交和杂合体的鉴定得以比较方便地实现^[15, 36]。对于纯合果孢子萌发形成的纯合丝状体来说,其 F_1 均为单色的叶状体;而杂合果孢子萌发形成的杂合丝状体的 F_1 叶状体中,绝大多数都是包含双亲颜色或重组色色块的颜色嵌合体。重组色色块的出现表明在 F_1 中出现了有效重组,而有效重组是构建作图群体的基础。

目前,有5种方法广泛用于产生植物单倍体,其中人工雄核发育是农作物首选的方法^[5],通过染色体加倍技术可进一步使单倍体发育成DH^[37]。虽然紫菜的异型世代交替生活史与高等植物的单体型生活史有着明显的差别,但本质上都可以通过分离单倍体材料进行染色体加倍而获得DH。不同之处在于,高等植物的单倍体细胞一般是减数分裂产生的4个分离的孢子(花粉或大孢子),而紫菜减数分裂后产生的4个单倍体细胞不分离,进而形成一个四分体。四分体的每个细胞再通过有丝分裂发育成基因型嵌合的紫菜叶状体^[36]。因此,在构建紫菜属DH群体的过程中,需要人工将 F_1 嵌合叶状体的不同色块切割分离,再分别进行染色体加倍^[9]。

根据细胞全能性的原理,每一粒花粉理论上可以发育成一个单倍体植株,但实际上有的

花粉由于基因型等的原因无法被诱导形成胚状体或胚状体诱导成苗的效率低^[38-39],从而导致构建的DH群体中缺少某些基因型^[4]。紫菜中也有类似的情况存在,减数分裂四分体的每个细胞在理论上应该继续进行有丝分裂,从而形成叶状体的不同区域,但是根据Zhang等^[40]的研究:坛紫菜四分体各细胞的后续发育存在较严重的不均衡现象,多数四分体近基部的1~2个细胞会明显滞育,最终形成由2~3个肉眼可见色块组成的嵌合叶状体。若以这些2~3个色块的嵌合叶状体为材料,则构建的DH群体中必然会缺少滞育细胞所携带的基因型信息,从而会影响条斑紫菜DH群体遗传结构的完整性。当这种DH群体用于遗传连锁图谱构建时,会引起标记的偏分离,从而影响作图的精度和效率^[41]。因此,在本研究中,从2000多棵嵌合叶状体中筛选出57棵4个色块均发育正常的四嵌合型叶状体,并利用其中的38棵四嵌合型叶状体构建了含有152个DH品系的条斑紫菜DH群体。因为每棵四嵌合型叶状体的4个色块均获得了DH品系,故认为该DH群体的遗传结构是完整的。

相对藻类植物来说,高等植物的外形和内部均显著分化,育种的指标也比较丰富^[42-44]。然而,由单层或局部双层细胞构成的紫菜叶状体,外形十分简单且内部基本无分化,故其在育种中能考察的性状较少。在本研究中,2个亲本的叶状体在L50、W50和FW50等3个性状上具有显著和极显著差异,这样的杂交组合扩大了后代重组的类型,有利于培育出优良品系。另外,2个亲本在叶状体的颜色上也有着显著区别,保证了杂交和杂合体鉴定的顺利进行^[45]。对DH群体152个品系的叶状体的经济性状的表明,3个性状及各性状的特定生长率均呈连续变异和正态分布,符合数量性状的典型特征,这是利用统计学方法进行数量性状遗传分析的基础。DH群体有4个性状均值介于双亲之间、有2个性状(L50和SGR-W)表现为超亲遗传,表明6个性状均为受多基因控制的数量性状,也表明2个超亲遗传性状的增效和减效基因在双亲中均有分布,通过基因重组产生正负2个方向的超亲基因型^[44]。DH群体的6个数量性状的变异系数均大于20%,属中等强度变异,与坛紫菜类似^[9]。一般来说,变异系数越大,越容易筛选到性状优良的品系,也表明这些性状可以通过选择育

种进行改良。类似的情况也存在于其他经济海藻中, 如海带属^[46]。性状间相关性分析表明, FW50与L50和W50均存在显著的正相关性, 故在育种过程中可通过选择长度或宽度具优势的品系, 来培育湿重具优势的品系, 这与坛紫菜的研究结果相似^[9]。性状相关性分析是间接选择育种的基础, 对于有些测量手段要求较高的或遗传力较低的性状(品质或产量)来说, 可通过与其密切相关的性状(形态)的选择以提高效率^[47-49]。

个体性状的表现是基因和环境共同作用的结果, 了解遗传作用(遗传力)和环境影响(环境力)在其表型中各占多大的比重, 是非常重要的。其中, 遗传力决定某性状作为选择依据的可靠性, 在育种实践中具有一定的参考价值^[21, 50]。一般地说, 遗传力高的性状, 其表现不易受环境的影响, 故该性状是育种选择的对象; 而遗传力低的性状, 其表现受环境的影响较大, 也就是说该性状遗传给子代的能力较小, 故选择的效果较差^[22, 26]。本研究中, L50、W50和FW50的遗传力分别为58.17%、64.00%和57.64%, 表明这3个性状的遗传力均较高, 与坛紫菜的结果类似^[9]。另外, 通过估算控制某性状分离的基因对数, 能更好地理解数量性状的遗传, 并能优化提高某个数量性状表型的育种策略。同时, g_1 和 g_2 在数量性状的统计分析中可用于检测控制某个性状的多基因间是否存在互作, 并可进一步确定互作方式, 用于指导育种选择, 且有研究表明其比方差分析更有效^[24, 51]。在本研究中, 控制L50、W50和FW50等3个性状分离的基因对数分别为6.61、12.63和8.09, 与坛紫菜的结果类似^[9]。控制L50和FW50的多基因间均分别无互作; 控制W50和SGR-W的多基因间均分别存在互补作用; 控制SGR-L和SG-FW的多基因间均分别存在重叠作用。根据已有的研究^[24, 51-53]并结合上述结果: L50和FW50的遗传力高、基因对数少且没有互作效应, 应在育种早期作较严格的选择; 对于基因间存在互作的性状, 在育种的早期阶段应降低要求, 从而可以产生更多的重组机会; 另外, 对于存在重叠作用的性状(SGR-L和SG-FW), 其选择强度应小于存在互补作用的性状(W50和SGR-W)。在海藻育种的过程中, 应更多地借鉴高等植物的育种理论和手段, 为高效培育海藻新品种奠定基础。

参考文献:

- [1] 陆勤勤, 周伟, 邓银银. 条斑紫菜栽培的经济效益与生态效益概述[J]. 中国水产, 2016(1): 53-54.
Lu Q Q, Zhou W, Deng Y Y. Introduction of economical and ecological benefit during cultivation of *Pyropia yezoensis*[J]. China Fisheries, 2016(1): 53-54(in Chinese).
- [2] 戴朝曦. 用花药培养法诱导马铃薯产生双单倍体植株的研究[J]. 科学通报, 1982, 27(24): 59-62.
Dai Z X. Development of double haploid population in *Solanum tuberosum* using anther culture method[J]. Chinese Science Bulletin, 1982, 27(24): 59-62(in Chinese).
- [3] 穆平, 张洪亮, 姜德峰, 等. 利用水、旱稻DH系定位产量性状的QTL及其环境互作分析[J]. 中国农业科学, 2005, 38(9): 1725-1733.
Mu P, Zhang H L, Jiang D F, et al. QTL Mapping and interactions between QTL and environment for yield and its components using a DH population derived from a lowland and upland rice cross[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(9): 1725-1733(in Chinese).
- [4] 方宣钧, 吴为人, 唐纪良. 作物DNA标记辅助育种[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
Fang X J, Wu W R, Tang J L. DNA marker assisted breeding in crop[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [5] 徐云碧. 分子植物育种[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
Xu Y B. Molecular plant breeding[M]. Beijing: Science Press, 2014 (in Chinese).
- [6] 蔡岳, 梁增浩. 小麦DH群体的构建及其应用研究[J]. 现代农业科技, 2013(2): 24-25.
Cai Y, Liang Z H. Construction and application research of wheat DH groups[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2013(2): 24-25(in Chinese).
- [7] Forster B P, Thomas W T B. Doubled haploids in genetics and plant breeding, in Plant breeding reviews[M], Janick J, Editor. John Wiley & Sons, Inc. 2010.
- [8] Maluszynski M, Kasha K J, Forster B P, et al. Doubled haploid production in crop plants - a manual[M]. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 2003.
- [9] Xu Y, Xie C T, Chen C S, et al. Genetic analyses of six quantitative traits of a doubled haploid population of

- Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Applied Phycology, 2011, 24(1): 89-96.
- [10] 徐燕, 谢潮添, 陈昌生, 等. 坛紫菜遗传连锁图谱的构建[J]. 水产学报, 2010, 34(9): 1354-1362.
- Xu Y, Xie C T, Chen C S, *et al.* Construction of a genetic linkage map for *Porphyra yezoensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(9): 1354-1362(in Chinese).
- [11] Xie C T, Chen C S, Xu Y, *et al.* Construction of a genetic linkage map for *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) based on sequence-related amplified polymorphism and simple sequence repeat markers[J]. Journal of Phycology, 2010, 46(4): 780-787.
- [12] Zhang B L, Yan X H, Huang L B. Evaluation of an improved strain of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) with high-temperature tolerance[J]. Journal of Applied Phycology, 2011, 23(5): 841-847.
- [13] 张秉磊. 条斑紫菜耐高温品系的筛选[D]. 上海: 上海海洋大学, 2009: 1-64.
- Zhang B L. Isolation and characterization of heat-resistant strains in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2009: 1-64 (in Chinese).
- [14] 王华芝. 条斑紫菜耐高温品系的进一步筛选与特性分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012: 1-81.
- Wang H Z. Advanced isolation and characterization of temperatrue-resistant strains of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012: 1-81 (in Chinese).
- [15] 严兴洪, 田中次郎, 有贺佑胜. 条斑紫菜色彩突变体的诱导、分离和特性分析[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 221-228.
- Yan X H, Tanaka J, Aruga Y. Isolation and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(3): 221-228(in Chinese).
- [16] 刘美君, 黄林彬, 严兴洪. 条斑紫菜种内杂交优良品系的筛选与特性分析[J]. 中国水产科学, 2015, 22(1): 33-43.
- Liu M J, Huang L B, Yan X H. Isolation and characterization of the improved strain HW-4 by intraspecific hybridization in *Pyropia yezoensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(1): 33-43(in Chinese).
- [17] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. Japanese Journal of Phycology, 1984, 32: 333-347.
- [18] 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(1): 39-52.
- [19] 严兴洪, 张淑娟, 黄林彬. ^{60}Co - γ 射线对条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*)的诱变效果与色素突变体分离[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(1): 56-61.
- Yan X H, Zhang S J, Huang L B. Induction and isolation of pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) by ^{60}Co - γ ray irradiation[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(1): 56-61(in Chinese).
- [20] 时立文. SPSS 19.0统计分析从入门到精通[M]. 北京: 清华大学出版社, 2012.
- Shi L W. SPSS 19.0 statistical analysis from entry to master[M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2012 (in Chinese).
- [21] 袁志发, 常智杰, 郭满才, 等. 数量性状遗传分析[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- Yuan Z F, Chang Z J, Guo M C, *et al.* Genetic analysis of quantitative traits[M]. Beijing: Science Press, 2015 (in Chinese).
- [22] 吴焯章. 第十二讲 遗传力与遗传力的估算[J]. 内蒙古林业, 1986(12): 31-33.
- Wu Y Z. Chapter 12 Heterbility and its estimation[J]. Journal of Inner Mongolia Forestry, 1986(12): 31-33(in Chinese).
- [23] Choo T M, Reinbergs E. Estimation of the number of genes in doubled haploid populations of barley (*Hord-eum vulgare*)[J]. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 1982, 24(3): 337-341.
- [24] Choo T M, Reinbergs E. Analyses of skewness and kurtosis for detecting gene interaction in a doubled haploid population[J]. Crop Science, 1982, 22(2): 231-235.
- [25] Zhang G Q, He Y, Xu L, *et al.* Genetic analyses of agronomic and seed quality traits of doubled haploid population in *Brassica napus* through microspore culture[J]. Euphytica, 2006, 149(1): 169-177.

- [26] 刘庆昌. 遗传学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2010.
Liu Q C. Genetics [M]. 2ndedi. Beijing: Science Press, 2010 (in Chinese).
- [27] 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[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 363-369.
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(in Chinese).
- [28] 黄文, 吕峰, 严兴洪. 条斑紫菜耐高温品系的特性分析与海区中试[J]. 水产学报, 2014, 38(10): 1758-1769.
Huang W, Lv F, Yan X H. Characterization of a high-temperature resistant strain of *Pyropia yezoensis* and its pilot cultivation in mariculture farm[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(10): 1758-1769(in Chinese).
- [29] 陈莎莎, 丁洪昌, 严兴洪. 印度产紫菜 *Pyropia chauhaniai* 优良品系的选育与特性分析[J]. 水产学报, 2016, 40(6): 933-945.
Chen S S, Ding H C, Yan X H. Selection and characterization of an improved strain of *Pyropia chauhaniai* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(6): 933-945(in Chinese).
- [30] 丁洪昌, 严兴洪. 坛紫菜杂交重组品系的选育与特性分析[J]. 水产学报, 2015, 39(9): 1359-1367.
Ding H C, Yan X H. Selection and characterization of an improved strain by hybridization recombinant in *Pyropia haitanensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(9): 1359-1367(in Chinese).
- [31] 李伟新, 朱仲嘉, 刘凤贤. 海藻学概论[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
Li W X, Zhu Z J, Liu F X. Introduction to marine phycology[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1982 (in Chinese).
- [32] 贾威, 黄林彬, 严兴洪. 条斑紫菜6个品系的SRAP分析[J]. 水产学报, 2013, 37(10): 1495-1502.
Jia W, Huang L B, Yan X H. Analysis and identification of different strains of *Pyropia yezoensis* using sequence-related amplified polymorphism markers[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(10): 1495-1502(in Chinese).
- [33] 严兴洪, 李琳, 陈俊华, 等. 坛紫菜的单性生殖与遗传纯系分离[J]. 高技术通讯, 2007, 17(2): 205-210.
Yan X H, Li L, Chen J H, *et al.* Parthenogenesis and isolation of genetic pure strains in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Chinese High Technology Letters, 2007, 17(2): 205-210(in Chinese).
- [34] 张源, 严兴洪. 自然条件下的坛紫菜四分体发育与性别表型观察[J]. 水产学报, 2013, 37(6): 871-883.
Zhang Y, Yan X H. Observation on tetrad development and formation of sex phenotype of *Pyropia haitanensis* blades in natural conditions[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(6): 871-883(in Chinese).
- [35] 张学成, 秦松, 马家海, 等. 海藻遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
Zhang X C, Qing S, Ma J H, *et al.* The genetics of marine algae[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005 (in Chinese).
- [36] Mitman G G, van der Meer J P. Meiosis, blade development, and sex determination in *Porphyra purpurea* (Rhodophyta)[J]. Journal of Phycology, 1994, 30(1): 147-159.
- [37] Sopory S K, Munshi M. Anther culture, in *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*[M]// Jain S M, Sopory S K, Veilleux R E, Volume 1 - Fundamental Aspects and Methods, Dordrecht, Springer Netherlands: 1996.
- [38] 武冲, 唐树梅, 张勇, 等. 植物花粉培养研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(11): 146-149.
Wu C, Tang S M, Zhang Y, *et al.* Advances of research on plant pollen culture[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(11): 146-149(in Chinese).
- [39] 周伟军, 唐桂香, 张国庆, 等. 甘蓝型油菜小孢子秋水仙碱处理提高双单倍体频率研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(4): 410-414.
Zhou W J, Tang G X, Zhang G Q, *et al.* Studies on efficient production of doubled haploid plants by colchicine treatments in microspore culture of *Brassica napus*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(4): 410-414(in Chinese).
- [40] Zhang Y, Yan X H, Aruga Y. The sex and sex determination in *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Plos One, 2013, 8(8): e73414.
- [41] 刘海燕, 崔金腾, 高用明. 遗传群体偏分离研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(4): 613-617.
Liu H Y, Cui J T, Gao Y M. Progress of segregation

- distortion[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10(4): 613-617(in Chinese).
- [42] 齐绍武, 盛孝邦. 籼型两系杂交水稻主要农艺性状配合力及遗传力分析[J]. *杂交水稻*, 2000, 15(3): 38-41.
Qi S W, Sheng X B. Analysis on combining ability and heritability of major agronomic characters in two-line Indica hybrid rice[J]. *Hybrid Rice*, 2000, 15(3): 38-41(in Chinese).
- [43] 海燕, 何宁, 康明辉, 等. 小麦主要农艺性状的遗传分析[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(6): 168-171.
Hai Y, He N, Kang M H, *et al.* Genetic analysis of agronomic traits in wheat[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(6): 168-171(in Chinese).
- [44] 王军, 周美学, 黄祖六, 等. 大麦DH群体若干数量性状的遗传分析[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2006, 27(3): 65-69.
Wang J, Zhou M X, Huang Z L, *et al.* Genetic analysis of quantitative traits of a doubled haploid population in barley[J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2006, 27(3): 65-69(in Chinese).
- [45] Yan X H, Aruga Y. Genetic analysis of artificial pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta)[J]. *Phycological Research*, 2006, 48(3): 177-187.
- [46] 王清印. 海带几个经济性状遗传力和遗传相关的研究[J]. *山东海洋学院学报*, 1984, 14(3): 65-76.
Wang Q Y. A study of the heritability and genotypic correlation of some economic characters of *Laminaria japonica* Aresch[J]. *Journal of Shandong College of Oceanology*, 1984, 14(3): 65-76(in Chinese).
- [47] 石春海, 朱军. 稻米营养品质性状的间接选择和遗传改良[J]. *生物数学学报*, 1996, 11(2): 89-96.
Shi C H, Zhu J. Indirect selection and genetic improvement for nutrient quality traits in *Indica* rice[J]. *Journal of Biomathematics*, 1996, 11(2): 89-96(in Chinese).
- [48] 晋晓春, 毛盛贤. 数量性状的遗传分析和产量的间接选择[J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 1994, 30(1): 134-138.
Jin X C, Mao S X. Genetic analysis of quantitative characters and indirect selection for yield[J]. *Journal of Beijing Normal University (Natural Science)*, 1994, 30(1): 134-138(in Chinese).
- [49] 邱丽娟, 王金陵, 孟庆喜. 大豆蛋白质间接选择方法的初步研究[J]. *作物学报*, 1994, 20(3): 316-321.
Qiu L J, Wang J L, Meng Q X. Preliminary study on the indirect selection method of seed protein in soybean[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1994, 20(3): 316-321(in Chinese).
- [50] 单保山. 遗传力的概念及其发展I. 关于传统遗传力的几个问题[J]. *河北农业大学学报*, 1988, 11(1): 39-44.
Shan B S. The concept of heritability and its development I. some view on heritability[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1988, 11(1): 39-44(in Chinese).
- [51] 赵卫国, 王灏, 田建华, 等. 甘蓝型油菜DH群体若干数量性状的遗传分析[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(15): 86-91.
Zhao W G, Wang H, Tian J H, *et al.* Genetic analysis of quantitative traits with doubled haploid in *Brassica napus* L.[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(15): 86-91(in Chinese).
- [52] Choo T M, Reinbergs E. Analyses of skewness and kurtosis for detecting gene interaction in a doubled haploid population[J]. *Crop Science*, 1982, 22(2): 231-235.
- [53] 李俊周, 刘艳阳, 何宁, 等. 小麦DH群体数量性状的遗传分析[J]. *麦类作物学报*, 2005, 25(3): 16-19.
Li J Z, Liu Y Y, He N, *et al.* Genetics analysis of several quantitative traits of doubled haploid population in wheat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2005, 25(3): 16-19(in Chinese).

Genetic analysis of major economic traits in *Pyropia yezoensis* using double haploid population

HUANG Linbin, YAN Xinghong*

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

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

Abstract: Genetic parameters of major economic traits and their relationships of gametophytic blades in *Pyropia yezoensis* are the foundation of molecular breeding. A double haploid (DH) population of 152 lines was developed from the heterozygous conchocelis of an intraspecific crossing of wild-type strain (Py-WT2, male parent) and red mutation strain (Py-HT, female parent). It was found that all 6 traits (L50, W50, FW50, SGR-L, SGR-W and SGR-FW) were quantitative traits when analyzed by one-sample Kolmogorov-Smirnov test. The means of 4 traits of DH population lines were between their parents, among which W50 was nearer to female parent, and FW50, SGR-L and SGR-FW were nearer to male parent. L50 and SGR-W showed transgressive inheritance, among which L50 was lower than low value parent (female), and SGR-W was higher than high value parent (female). Coefficient of variation of the 6 traits of DH population was between 21.11%–56.68%, which meant that they had intermediate variability. Highly significantly positive correlations were observed between L50 and W50, L50 and FW50, W50 and FW50, and between SGR-L and SGR-W, SGR-L and SGR-FW, SGR-W and SGR-FW. Heritability of L50, W50 and FW50 were 58.17%, 64.00% and 57.64%, respectively; and the number of genes controlling the 3 traits was 6.61, 12.63 and 8.09, respectively. The equation of the curve between heritability (y) and the number of genes (x) was $y=0.2922x^2-4.6533x+76.162$ ($R^2=1$). According to estimated coefficients of skewness and kurtosis of the 3 traits tested, gene interactions were found to be absent for L50 and FW50, respectively, and complementary interactions were observed in W50 and SGR-W respectively, and duplicate interactions were observed in SGR-L and SGR-FW respectively. The results indicated that L50 and FW50 could be selected at early generation by their high heritabilities, less controlling genes and no gene interactions, and indirect selection could be applied between L50, W50 and FW50 to improve breeding efficiency of *P. yezoensis* because of their high correlations between each other.

Key words: *Pyropia yezoensis*; double haploid; quantitative trait; genetic analysis

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

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31302185); National High Technology Research & Development Program (“863” Program) (2012AA10A411)