

文章编号:1000-0615(2006)01-0001-08

## 坛紫菜减数分裂位置的杂交试验分析

严兴洪<sup>1</sup>, 李琳<sup>1</sup>, 有贺祐胜<sup>2</sup>(1. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室,  
上海高校水产养殖学 E-研究院, 上海 200090; 2. 东京农业大学, 东京 156-8502, 日本)

**摘要:**利用坛紫菜人工色素突变体与野生型进行杂交试验,通过观察 F<sub>1</sub> 叶状体中是否出现颜色分离和颜色嵌合体来证明坛紫菜减数分裂发生的确切位置。以红色型人工色素突变体(SPY-1 和 R-10)作为母本,其特征:叶状体呈红色或桔红色,藻体薄而弹性差,无边缘刺;以野生型(*wt*)作为父本,其特征:叶状体呈棕绿色,藻体厚而富有弹性,有丰富的边缘刺。在杂交组 SPY-1(♀) × *wt*(♂) 和 R-10(♀) × *wt*(♂) 的 F<sub>1</sub> 叶状体中,均出现了 2 种亲本色和 2 种新颜色,它们分别为红色(R, 母本色),野生色(W, 父本色),浅红色(R', 比 R 色稍浅)和似野生色(W', 比野生色稍红)。4 种颜色在 F<sub>1</sub> 叶状体上,出现了分离并形成了呈直线型排列的不同色块,从而产生了大量由 2~4 个色块组成的颜色嵌合体;单个嵌合体上的色块数最多为 4 块。在颜色嵌合体中,R 和 R' 2 种色块的藻体薄而弹性差,无边缘小刺,而 W 和 W' 2 种色块的藻体厚而弹性好,富有边缘刺。在 F<sub>1</sub> 叶状体中,颜色嵌合体占 95.2%~96.7%,单色叶状体只占 3.3%~4.8%。上述结果说明,坛紫菜杂合丝状体产生的壳孢子,其萌发时进行的最初两次细胞分裂是减数分裂,它所产生的 4 个子细胞继续分裂,最终发育成含 2~4 个色块组成的颜色嵌合体;2 种新颜色是由于在减数分裂的第一次分裂时发生了染色体交换和重组所产生的。本文使用的两个色素突变体,除含 2 个或 2 个以上的颜色变异基因外,还含有分别与藻体厚薄和边缘刺出现相关的变异基因,并且它们与颜色变异基因是连锁的。F<sub>1</sub> 颜色嵌合体中的重组色块在 3 种主要光合色素和色素蛋白的含量、生长速度和成熟早晚等方面均表现出比亲本色块更好的特性,暗示利用色素突变体杂交方法有可能培育出坛紫菜的优良品系。

**关键词:**坛紫菜;减数分裂;色素突变体;杂交试验;F<sub>1</sub> 叶状体;颜色嵌合体**中图分类号:**Q943;S917 **文献标识码:**A

## Cross experiments and analysis of the position of meiosis in *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta)

YAN Xing-hong<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>, ARUGA Yusho<sup>2</sup>(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem, Certificated by the Ministry of Agriculture,  
E-Institute of Shanghai Municipal Education Commission, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Tokyo University of Agriculture, Tokyo 156-8502, Japan)

**Abstract:** Cross experiments between the artificial pigmentation mutants and the wild type in *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng, were carried out to examine the occurrence of meiosis in its life history, according to the appearance of color segregation and color-sectored blades in the F<sub>1</sub> gametophytic blades developed from the conchospores of the heterozygous conchocelis. Two red types of

**收稿日期:**2005-03-28

**资助项目:**国家高科技研究发展计划(863 计划)资助项目(2002AA603023);国家自然科学基金资助项目(30170734, 30571443);上海市自然科学基金项目(052R14110);上海市高校水产养殖学 E-研究院特聘研究员项目(E03009);上海市重点学科建设项目(Y1101);上海水产大学校长基金项目(200101)

**作者简介:**严兴洪(1958-),男,浙江义乌人,博士,教授,博士生导师,主要从事海洋生物生理生态、海藻生物技术和遗传育种研究。  
E-mail: xhyan@shfu.edu.cn

pigmentation mutants (*SPY-1* and *R-10*) were used as female parent, and their blades show red or red orange in color, thin and weak elasticity and have no denticles on their marginal parts. The wild type (*wt*) was used as male parent, and its blades show wild-type color, thick and good elasticity and have many marginal denticles. Among the  $F_1$  gametophytic blades from the crosses of *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) and *R-10*(♀) × *wt*(♂), two parental colors (R and W) and two new colors (R', lighter in color than R; W', wild-type-like color and redder than W) appeared. Linear segregation of colors occurred in the blades, and therefore, the color-sectored blades with 2–4 sectors were formed. In the color-sectored blades, the sectors of R and R' were thinner than sectors of W and W', showing weak elasticity and without marginal denticles. However, the sectors of W and W' were thick, showing good elasticity with many marginal denticles. 95.2%–96.7% of the  $F_1$  gametophytic blades were color-sectored blades, and only 3.3%–4.8% of them were single-colored blades. These results indicated that the meiosis of *P. haitanensis* occurs during the first two cell divisions of the germinating conchospore, and thus it was considered that the initial four cells of the developing sporeling constitute a linear genetic tetrad leading to the formation of the color-sectored blades. The new colors of R' and W' were recombinant colors because the occurrence of chromosome recombination during the first cell division of the meiosis. It was certain that the color phenotypes of two mutants used in this paper resulted from two or more mutations in different genes, and that they also have mutations relative to blade thickness and formation of the marginal denticles, which is linked with color mutations. The recombinant colors of R' and W' were better in contents of chlorophyll *a* (Chl. *a*), phycoerythrin (PE) and phycocyanin (PC), and growth and maturation, indicating that the improved varieties probably could be obtained through crosses between the pigmentation mutants or between the pigmentation mutant and the wild type in *P. haitanensis*.

**Key words:** *Porphyra haitanensis*; meiosis; pigmentation mutant; cross experiment;  $F_1$  gametophytic blade; color-sectored blade

紫菜含 3 种主要的光合色素即叶绿素 *a*、藻红蛋白和藻蓝蛋白,叶状体的色彩主要由这 3 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 3 种色素的含量高低<sup>[1-3]</sup>。所以,色素突变体对开展紫菜的生理生态、遗传与育种以及体细胞杂交等研究有重要意义。目前,国内外有关紫菜突变体的研究工作主要集中在条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda)上。在 20 世纪 70 年代,日本获得了条斑紫菜的自然色素突变体。随后,他们利用条斑紫菜色素突变体的颜色作为标记,开展了一系列的紫菜遗传学和生理学研究,其中最大的研究成果是利用色素突变体与野生型进行杂交试验,阐明了条斑紫菜减数分裂的确切发生位置是在壳孢子萌发的第一和第二次细胞分裂时期<sup>[4]</sup>。同时,利用条斑紫菜发生减数分裂后,叶状体发育成颜色嵌合体的特性,选育出世界上首个紫菜杂交良种<sup>[5]</sup>。

坛紫菜(*Porphyra haitanensis* Chang et Zheng)是我国最主要的紫菜栽培品种之一,其个体大,生长快,产量占全国紫菜产量的 75% 左右。条斑紫菜的叶状体为雌雄同体,而坛紫菜的叶状体绝大部分是雌雄异体,只有极少量属雌雄同体<sup>[6]</sup>。对坛紫菜的基本生物学及人工栽培技术已开展过大量的研究<sup>[6]</sup>,但对坛紫菜的遗传规律认识极少,坛紫菜的遗传育种工作几乎没有开展过,至今养殖所使用的仍然是自然野生种。根据的染色体观察

结果,发现坛紫菜减数分裂发生的位置可能与条斑紫菜相同<sup>①</sup>,发生在壳孢子萌发初期,但是,需要更有说服力的遗传学证据直接证明它。阐明坛紫菜减数分裂发生的确切位置,对完善它的生活史和开展遗传育种工作有重要价值。本文利用坛紫菜人工色素突变体与野生型进行杂交试验,通过观察  $F_1$  叶状体是否出现颜色分离和产生颜色嵌合体等来证明坛紫菜减数分裂发生的确切位置。

## 1 材料和方法

试验使用的野生型坛紫菜,采自福建平潭岛自然岩礁上,1991 年建立纯系,株名 PT-001,以自由丝状体形式被保存在实验室内。使用的坛紫菜桔红色突变体(*SPY-1*)和红色突变体(*R-10*)均为人工色素突变体,它们是经<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐射野生型坛紫菜叶状体后获得的,突变体分离方法同文献<sup>[7]</sup>,使用的培养液均为 MES 培养基<sup>[8]</sup>。叶状体的室内培养方法参考文献<sup>[9]</sup>。

叶状体生长 2 个月左右,选择健康的叶状体作为亲本,进行杂交试验。以 1:1 的比例进行雌雄叶状体混合培养,2 周后,除去雄性叶状体,保留雌性叶状体进行单裸培养,直至果孢子放出为止。将收集到的果孢子单个培养于试管中,使其

① 严兴洪,等. 坛紫菜减数分裂的染色体观察. 2005.

萌发成杂合丝状体。当丝状体藻落生长到一定大小时,用粉碎机将其打碎,并移植到干净的贝壳内,方法和培养条件同上。用降温刺激法促使成熟的杂合丝状体释放壳孢子,收集到的壳孢子经筛绢(网孔 50  $\mu\text{m}$ )过滤后,被置于培养皿中培养,以获得  $F_1$  叶状体。培养条件:温度( $25 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ ,光照密度 40  $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

$F_1$  叶状体被培养 2~3 周后,挑出叶状体,置于载玻片上,用研究显微镜(Olympus BH)检查并拍照记录颜色嵌合体的类型。待叶状体生长到 1 mm 左右时,检查  $F_1$  叶状体的颜色分离和叶状体类型,并进行遗传学统计分析。

$F_1$  颜色嵌合体培养约 40 d(前 20 d 在培养皿中静置培养),肉眼可区分不同的藻体色块,将颜色嵌合体上的 4 种颜色藻块分别切下混合培养,测定 4 种色块的活体吸收光谱和 3 种主要光合色素和色素蛋白:叶绿素  $a$ (Chl.  $a$ )、藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC)的含量,测定参考文献[3]。

当不同色块可被肉眼区分时,将颜色嵌合体上的 4 种颜色的藻块分别切下,用打孔器(直径 0.25 cm)取 4 种色块的圆盘藻块各 30 个,进行混合培养,每隔 3 天测量一次圆盘藻块的生长情况。

## 2 结果

### 2.1 坛紫菜桔红色突变体与野生型之间的杂交

亲本的活体吸收光谱和色素蛋白含量 桔红色突变体(*SPY-1*)特征:叶状体呈桔红色,藻体基部明显比中部和头部细,藻体很薄,无边刺,易成熟。野生型(*wt*)特征:叶状体呈棕绿色,具有丰富的边缘刺,藻体厚而富有弹性。在同样的条件下培养坛紫菜桔红色突变体与野生型 47 d 后,测定活体吸收光谱和 3 种主要光合色素和色素蛋白含量。发现野生型坛紫菜的叶状体活体吸收光谱与野生型条斑紫菜相同,在波长 350~750 nm 之间,也有 5 个明显的吸收高峰,从短波到长波依次被标记为  $P_1$ 、 $P_2$ 、 $P_3$ 、 $P_4$  和  $P_5$ ,  $P_1$  主要由 Chl.  $a$  和  $\beta$ -胡萝卜素,  $P_2$  主要由 PE 和  $\beta$ -胡萝卜素,  $P_3$  由 PE,  $P_4$  由 PC,  $P_5$  由 Chl.  $a$  的吸收所致<sup>[9]</sup>。坛紫菜桔红色突变体(*SPY-1*)的活体吸收光谱与野生型(*wt*)一样,也有 5 个吸收高峰(图 1),但是,与 *wt* 相比, *SPY-1* 的 5 个吸收峰值均比野生型高。与 *wt* 相比, *SPY-1* 的 Chl.  $a$  含量差异不大,但 PE 含量明显增加,PC 含量差异不大(图 2)。

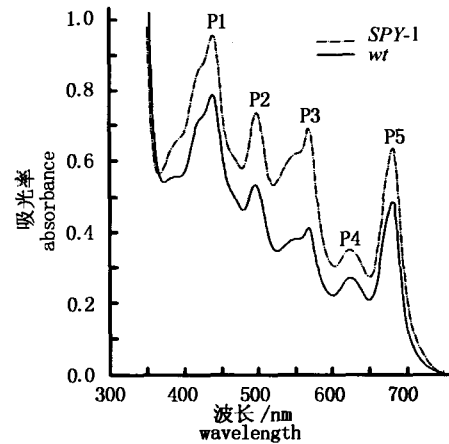


图 1 坛紫菜桔红色突变体和野生型叶状体的活体吸收光谱(培养 47 d)

Fig. 1 *In vivo* absorption spectra of gametophytic blades of the red range mutant and the wild type in *P. haitanensis* after 47 d in culture

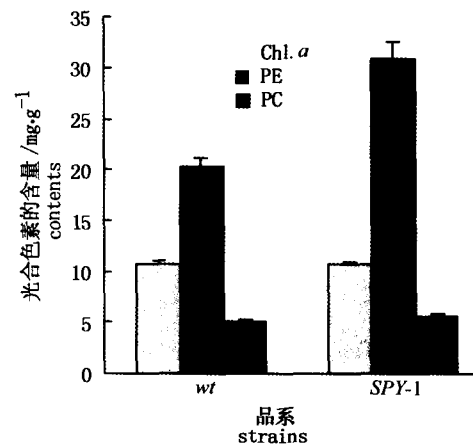


图 2 坛紫菜桔红色突变体(*SPY-1*)和野生型(*wt*)叶状体的叶绿素  $a$ (Chl.  $a$ ),藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC)含量(培养 47 d)

Fig. 2 Contents of Chl.  $a$ , phycoerythrin and phycocyanin in gametophytic blades developed from the conchospores of red orange mutant (*SPY-1*) and the wild type (*wt*) in *P. haitanensis* after 47 d in culture

杂交结果和遗传学分析 以桔红色突变体(*SPY-1*)作为母本,野生型(*wt*)作为父本,进行杂交试验。杂交培养后,从母本桔红色突变体(*SPY-1*)叶状体头部释放出来的杂合果孢子,被单个分离并培养成杂合丝状体藻落。成熟的杂合丝状体释放出壳孢子,后者长成  $F_1$  叶状体。在本杂交试验的  $F_1$  叶状体中,出现了 4 种颜色:桔红色(R,母本色),野生色(W,父本色),浅桔红色(R',比 R 稍浅偏黄)和似野生色(W',比野生色稍

红)。4种颜色在 $F_1$ 叶状体上出现了分离,形成不同的色块。不同的色块之间有明显的分界,可被肉眼区分。在同一个叶状体上,不同的色块呈直线型块状排列分离,从而形成了由4种颜色块相嵌的叶状体(图版-1,d~w)。它们分别由2~4个色块构成,单个嵌合体上的色块数最多为4块。在 $F_1$ 叶状体中,除了颜色嵌合体外,还观察到4种单色的叶状体,颜色种类与嵌合体上出现的4种色块的颜色相同(图版-1,a~c)。在 $F_1$ 叶状体中,观察到4种单色叶状体和41种颜色嵌合体,其中,颜色嵌合体占96.7%,单色叶状体只占3.3%;4种颜色在嵌合体中不呈等比分离,其分离比为 $1R:1.03W:0.12R':0.06W'$ (表1)。在 $F_1$ 颜色嵌合体上,桔红色(R)和浅桔红色(R')2种色块的藻体仍很薄软,分布于嵌合体稍部和中部的这2种色块,其藻体边缘完全无刺,极少数分布于嵌合体基部的这2种色块的藻体边缘出现类似边缘刺的微小突起,但其大小和数量远比分布于藻体基部的野生色块(W)的边缘刺小而少。野生色(W)和似野生色(W')2种色块,在藻体稍、中、基3个部位,均富有边缘刺(图版,2~6)。

$F_1$ 颜色嵌合体上4种颜色藻块的活体吸收光谱及主要光合色素和色素蛋白含量比较  $F_1$ 颜色嵌合叶状体上的4种色块分别表现出不同的活体光谱吸收特性,5个吸收峰的峰值高低存在明显的差异,其中2个重组色块(R'和W')的5个峰值均高于2个亲本色块(R和W)(图3)。测定这4种色块的3种主要光合色素和色素蛋白的含量,结果表明,R'和W'色块的Chl. a, PE和PC的含量分别比R和W色块高(图4)。

$F_1$ 颜色嵌合体上4种颜色藻块的生长与成熟早晚比较 R色块和R'色块的生长速度比W和W'色块快(图5)。在40~48d,R色块的生长速度最快,但在49~55d,R'色块的生长速度最快,绝对生长率很高,达到 $0.63\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ ,原因是49d以后R色块开始成熟,而R'色块到61d仍未成熟,生长迅速。相对于R色块和R'色块,W色块和W'色块一直表现出比较低的生长速度,W色块在55d以后开始成熟,而W'色块到61d才出现成熟特征。这说明R'色块和W'色块的快速生长期分别比R色块和W色块延长了。

表1 坛紫菜桔红色突变体(SPY-1, ♀)与野生型(wt, ♂)杂交所形成的 $F_1$ 叶状体中出现的颜色类型和分离以及藻体类型

Tab.1 Color phenotypes, blade types and color segregation in the  $F_1$  gametophytic blades from the cross of SPY-1(♀) × wt(♂) in *Porphyra haitanensis*

12	R	14	W	6	R'	5	W'
423	R + W	234	W + R	7	R' + R	4	W' + R
10	R + R'	27	W + R'	13	R' + W	12	W' + W
2	R + W'	5	W + W'	2	R' + W'	2	W' + R'
107	R + W + R	85	W + R + W	5	R' + R + W	5	W' + R + W
26	R + W + R'	2	W + R + R'	6	R' + W + R	2	W' + W + R
5	R + W + W'	3	W + R + W'	5	R' + W + R'	3	W' + W + W'
4	R + R' + R	2	W + R' + R	2	R' + W + W'		
11	R + R' + W	7	W + R' + W				
14	R + W' + W	2	W + W' + W				
3	R + W' + R'						
23	R + W + R + W	21	W + R + W + R	2	R' + W + R' + W		
2	R + W + R' + R	2	W + R + W + R'				
5	R + W + R' + W'	1	W + R' + W + R				
2	R + W' + W + R						
2	R + W' + R' + W						
651(16)		405(13)		48(9)		33(7)	

注:颜色嵌合体的颜色排列是从藻体基部到稍部。藻体色块排列类型前的数字为观察到的个体数。括号里的数目为该栏所观察到的藻体类型数。总检查个体数=1137个(45种藻体类型)。颜色嵌合体=96.7%;颜色嵌合体上4种颜色的分离比值:1177R:1209W:151R':78W'(1R:1.03W:0.12R':0.06W')

Notes: Groupings refer to the color of the basal sector. The number of blades in each type is indicated. The number of blade types is shown in parentheses. Total number of blades = 1137 (45 types). Sectored blades = 96.7%. Segregation ratio of colors in the sectored blades: 1177 R:1209 W:151 R':78W' (approximately 1 R:1.03W:0.12R':0.06W').

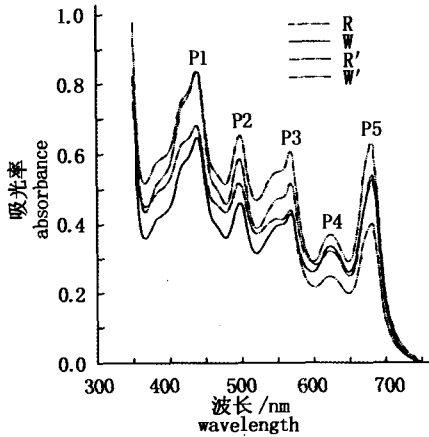


图3 坛紫菜 *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) 杂交组产生的  $F_1$  颜色嵌合叶状体上4种色块的活体吸收光谱(培养60 d)

Fig.3 *In vivo* absorption spectra of gametophytic blades in four color sectors in  $F_1$  gametophytic color-sectored blades produced in the cross of *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) in *P. haitanensis* after 60 days in culture

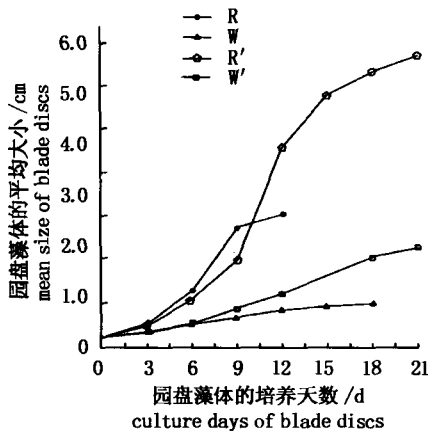


图5 坛紫菜 *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) 杂交产生的  $F_1$  颜色嵌合叶状体上4种色块的圆盘藻体生长曲线

Fig.5 Growth curve of discs of four color sectors of  $F_1$  gametophytic color-sectored blades produced in the cross of *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) in *P. haitanensis*

## 2.2 坛紫菜红色突变体(R-10)与野生型(wt)之间的杂交

红色突变体(R-10)特征:叶状体呈红色,无边缘刺,藻体薄而弹性差。野生型(*wt*)特征:叶状体呈棕绿色,具丰富的边缘刺,藻体厚而富含弹性。以红色突变体作为母本,野生型作为父本,进行杂交试验。从母本的头部释放出果孢子,后者被培养成丝状体。在  $F_1$  叶状体中,出现了4种颜色,它们分别为红色(R,母本色),野生色(W,父本色),浅红色(R',比R色稍浅)和似野生色(W',

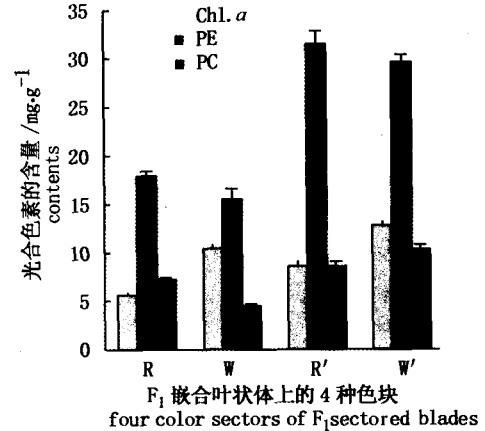


图4 坛紫菜 *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) 杂交组产生的  $F_1$  颜色嵌合叶状体上4种色块的叶绿素a,藻红蛋白和藻蓝蛋白含量(培养60 d)

Fig.4 Contents of Chl. a, PE and PC in four color sectors of  $F_1$  gametophytic color-sectored blades produced in the cross of *SPY-1*(♀) × *wt*(♂) in *P. haitanensis* after 60 d in culture

比野生色稍红);4种颜色在  $F_1$  叶状体上出现了分离,形成不同的色块,在叶状体上呈块状直线型排列分离,从而形成了由4种颜色块相嵌的叶状体。颜色嵌合体分别由2~4个色块构成;单个嵌合体上色块数最多为4块。在  $F_1$  叶状体中,除了颜色嵌合体外,还观察到4种单色的叶状体,颜色种类与颜色嵌合体上出现的4种颜色相同。如表2所示,在本杂交试验的  $F_1$  叶状体中,观察到4种单色叶状体和59种颜色嵌合体,其中,颜色嵌合体占95.2%,而单色叶状体只占4.8%。4种颜色在嵌合体中不呈等比分离,其分离比为  $R:W:R':W' = 1:0.89:0.32:0.14$ ,这一结果说明母本红色突变体至少含2个与颜色相关的变异基因。在一棵含4种色块镶嵌的叶状体(R + W + R' + W')中,红色和浅红色2种色块的藻体边缘均无小刺,而野生色和似野生色2种色块的藻体富含边缘刺。这4种颜色的藻块分别被切下,培养一段时间后,发现来自红色和浅红色2种色块的藻体较薄软,弹性差,而来自野生色和似野生色2种色块的藻体明显较厚且富含弹性。用酶解法分别获得这4种不同颜色藻块的单离细胞,并把它们培养成大的再生叶状体,其结果显示,体细胞再生体的颜色与各自母体藻块的颜色十分一致,没有其它颜色的再生体出现,藻体的边缘刺有无和藻体的厚薄均与母体藻块非常一致。

表 2 坛紫菜红色突变体 (*R-10*, ♀) 与野生型 (*wt*, ♂) 杂交所形成的  $F_1$  叶状体中出现的颜色类型和分离以及藻体类型

Tab.2 Color phenotype, blade type and color segregation in  $F_1$  gametophytic blades from the cross of *R-10* (♀) × *wt* (♂) in *P. haitanensis*

12	R	5	W	1	R'	1	W'
95	R+W	85	W+R	22	R'+R	2	W'+R
20	R+R'	5	W+R'	4	R+W'	2	W'+W
4	R'+W	2	W+W'	4	R'+W'	3	W'+R'
30	R+W+R	25	W+R+W	7	R'+R+W	1	W'+R+W
6	R+W+R'	1	W+R+R'	1	R'+R+R'	2	W'+R+R'
1	R+R'+R	1	W+R'+R	2	R'+W+R	2	W'+W+R
1	R+W+W'	1	W+R+W'	2	R'+R+W'	1	W'+R+W'
2	R+R'+W	2	W+R'+W	3	R'+W+R'	3	W'+W+R'
1	R+R'+W'	2	W+R'+W'	1	R'+W+W'		
1	R+W'+R	1	W+W'+R	1	R'+W'+R		
2	R+W'+W	2	W+W'+W	1	R'+W'+W		
1	R+W'+R'	1	W+W'+R'	1	R'+W'+R'		
3	R+W+R+W	1	W+R+W+R	3	R'+R+W+R	1	W'+R+W+R
1	R+W+R+R'	1	R+W+R'+W'	1	R'+R+R'+R		
1	R+R'+R+W	1	W+R+R'+W	1	R'+R+R'+W		
1	R+R'+W+R	1	W+R'+R+W	1	R'+R+R'+W'		
1	W+R+W'+R			1	R'+W'+R'+W'		
83 (18)		37 (17)		7 (18)		8 (10)	

注:颜色嵌合体的颜色排列是从藻体基部到梢部。藻体色块排列类型前的数字为观察到的个体数。括号里的数目为该栏所观察到的藻体类型数。总检查个体数=395个(63种藻体类型)。颜色嵌合体=95.2%;颜色嵌合体上4种颜色的分离比值:384R:341W:122R':52W'(1R:0.89W:0.32R':0.14W')。R, 红色; W, 野生色; R', 重组的浅红色; W', 重组的似野生色

Notes: groupings refer to the color of the basal sector. the number of blades in each type is indicated. the number of blade types is shown in parentheses. Total number of blades = 395 (63 types). Sectored blades = 95.2%. Segregation ratio of colors in the sectored blades: 384R:341W:122R':52W' (approximately 1R:0.89W:0.32R':0.14W'). R, red; W, wild-type color; R', recombinant light red; W', recombinant wild-type-like color

### 3 讨论

在上述2组杂交试验的  $F_1$  叶状体中,均出现颜色分离,不同的颜色块在叶状体中呈直线型镶嵌排列,色块形状非常规则,色块间的界限明显而整齐,1个叶状体中出现的最多颜色块为4块,除2种亲本颜色以外,还出现2种新颜色。这些结果与使用含2个变异基因的条斑紫菜色素突变体与野生型进行杂交的结果非常相似<sup>[10,11]</sup>。条斑紫菜的这种颜色遗传分离现象已被证明是由于杂合丝状体产生的壳孢子在萌发时进行的最初两次细胞分裂是减数分裂,产生的4个子细胞继续不断分裂,最终发育成含2~4块颜色构成的镶嵌叶状体,出现的新颜色是由于细胞减数分裂时进行染色体交换重组所产生的<sup>[4,10,11]</sup>。所以,我们认为坛紫菜和条斑紫菜一样,减数分裂发生在壳孢子萌发时最初的两细胞分裂时期。

此结论与根据坛紫菜壳孢子萌发的最初两次细胞分裂发生染色体数目减半并伴有明显的减数分裂特征等所得出的坛紫菜壳孢子萌发的最初两次细胞分裂是减数分裂<sup>①</sup>,这一结果相符。

在上述2组杂交试验的  $F_1$  叶状体中,分别出现了2种新颜色浅红色(R')和似野生色(W'),它们被认为是坛紫菜壳孢子进行减数分裂时发生染色体交换重组所产生的。由于在  $F_1$  叶状体中出现了4种颜色(2种亲本色,2种重组色),可以认为本文使用的坛紫菜桔红色突变体(SPY-1)和红色突变体(R-10)均含2个或2个以上颜色变异基因。根据遗传杂交理论,由杂合丝状体释放的壳孢子长成的  $F_1$  叶状体,应该百分之百是颜色嵌合体,但本文观察到的结果是颜色嵌合体占了绝大部分(95%以上),单色叶状体只占极少部分。单

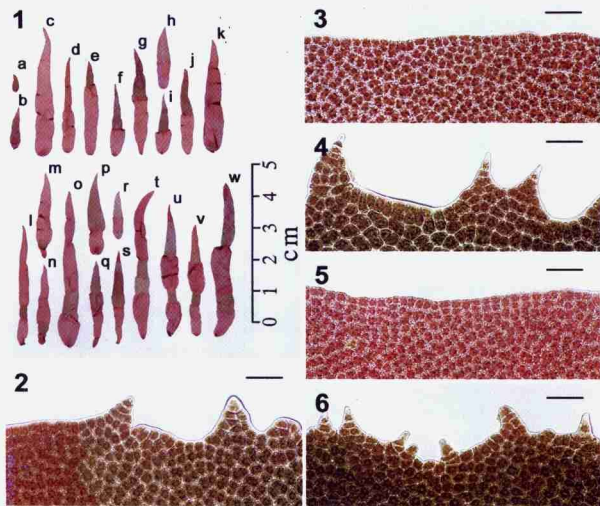
① 严兴洪,等. 坛紫菜减数分裂的染色体观察. 2005.

色叶状体产生的原因可能是壳孢子在进行减数分裂的第一次分裂时,染色体未发生交换,第一次分裂结束后,与颜色相关的变异基因就被分离了,这样的壳孢子萌发体应该发育成 2 色块嵌合体(W + R 或 R + W),但如果在 2 细胞苗阶段,发生一个细胞停止分裂或死亡等情况,它们就只能发育成单色叶状体(R 和 W 苗)。同样的原因也可以使染色体发生交换过的二细胞苗发育成单色苗(R'和 W'苗)。对颜色嵌合体的色块分离比例进行统计发现,2 种亲本色比例很高,但 2 种新的重组色 R'和 W'的比例分别为 5.8% ~ 13.6% 和 3.0% ~ 5.7%,这说明 2 个变异基因距离很近,发生重组的概率较低。由 MNNG 诱导产生的条斑紫菜人工色素突变体也被证明多数含 2 个以上的变异基因<sup>[12]</sup>。

在 F<sub>1</sub> 嵌合叶状体上,4 种颜色的藻块在活体吸收光谱,色素及色素蛋白含量,生长速度和成熟早晚方面均不同,也证明了在壳孢子萌发时发生了减数分裂,基因产生分离,携带不同基因的初始 4 个细胞继续不断分裂,就形成了具有不同生物学特性的颜色藻块。由染色体交换重组所产生的 R'和 W'色块具有一些明显的优良特性,与亲本相比,色素含量增加,生长速度提高,成熟期延后,可以预见通过杂交有可能培育出坛紫菜杂交良种。根据杂交试验结果,认为本文使用的 2 个色素突变体,除含有 2 个以上颜色变异基因外,还含有使藻体边缘刺消失和使藻体变薄的变异基因;同时,也证明坛紫菜叶状体的边缘刺和藻体厚度均由相关基因控制,并且它们与颜色变异基因相互连锁。这两类基因的遗传特性将在另文详细报道。

#### 参考文献:

- [1] 齊藤宗勝,荒木 繁,櫻井武磨,等. 乾海苔における光合成色素含有量および全窒素,全游離アミノ酸,全游離糖含有量の時期的變動と産地間の相違[J]. 日本水産學會志, 1975, 41(3): 365-370.
- [2] 有賀祐勝. スサビノリの色彩と色素[J]. 遺傳, 1980, 34(9): 8-13.
- [3] 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.
- [4] Ohme M, Kunifujii Y, Miura A. Cross experiments of the color mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. Jap J Phycol, 1986, 34: 101-106.
- [5] Miura A, Shin J A. Cross breeding in cultivars of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). A preliminary report [J]. Korean J Phycol, 1989, 4: 207-211.
- [6] 福建省水产局. 坛紫菜人工养殖[M]. 福州:福建人民出版社, 1979. 1-101.
- [7] 严兴洪, 李 琳, 陈俊华, 等. 坛紫菜的遗传与育种[A]. 国家 863 计划资源环境技术领域第一届海洋生物高技术论坛论文集[C]. 2003, 107-113.
- [8] 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 [J]. 海洋与湖沼, 1986, 17(3): 217-221.
- [9] 梁志强. 坛紫菜遗传育种的初步研究[D]. 上海:上海水产大学硕士学位论文, 上海, 2004.
- [10] Yan X H, Fujita Y, Aruga Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. J Applied Phycology, 2000, 12: 69-81.
- [11] Yan X H, Aruga Y. Genetic analysis of artificial pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Phycological Research, 2000, 48: 177-187.
- [12] Yan X H, Aruga Y. Induction of pigmentation mutants by treatment of monospore germling with NNG in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Algae, 1997, 12: 39-54.



图版 坛紫菜桔红色突变体 (*SPY-1*) 与野生型 (*ut*, ♂) 杂交后,  
由杂合丝状体的壳孢子长成的  $F_1$  叶状体

Plate Photographs of  $F_1$  blades produced in the cross of (*SPY-1*)  $\times$  *ut* (♂) in *Porphyra haitanensis*

1. 杂合丝状体的壳孢子萌发成的  $F_1$  叶状体(培养 40 d): a-c, 单色叶状体, d-w, 颜色嵌合体。2. 颜色嵌合体上的野生型部分有边缘刺, 而红色部分无边缘刺。3. 示颜色嵌合体上的 R 部分; 4. 示颜色嵌合体上的 W 部分; 5. 示颜色嵌合体上的 R' 部分; 6. 示颜色嵌合体上的 W' 部分。2-6 中的标尺均表示 50  $\mu$ m。

1.  $F_1$  blades produced in the cross of (*SPY-1*)  $\times$  *ut* (♂) in *Porphyra haitanensis* after 40 days in culture: a-c, Single-colored blades; a, A wild type (W) blade; b, A wild-like type ( $W^0$ ) blade; c, A light red ( $R'$ ) blade; d-w, Color-sectored blades with 2-4 sectors; d,  $R' + R$ ; e,  $R' + W$ ; f,  $R + W$ ; g,  $R' + W$ ; h,  $R + W'$ ; i,  $R' + W$ ; j,  $R' + W$ ; k,  $W + R$ ; l,  $R + W + W$ ; m,  $R + W + R'$ ; n,  $R + W + R$ ; o,  $R + W + R$ ; p,  $W + R + W$ ; q,  $R + W' + W$ ; r,  $W + R + W$ ; s,  $R' + W' + W$ ; t,  $R + W + W' + R$ ; u,  $R + W + R + W$ ; v,  $R + W + R + W$ ; w,  $R + W' + R + W$ . 2. A  $F_1$  color-sectored blade ( $R + W$ ) with marginal denticles in the wild-type sector and without marginal denticles in the red sector.

3. R sector in color-sectored blade. 4.  $R'$  sector in color-sectored blade. 5. W sector in color-sectored blade. 6.  $W'$  sector in color-sectored blade. Scale bar is 50  $\mu$ m in 2-6.