

紫菜育种的困难与对策分析

Difficulties and methodological propositions of laver (*Porphyra* sp.) breeding

李秉钧, 石媛媛, 杨官品

(中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

中图分类号: S968. 43

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)07-0085-03

紫菜是紫菜属(*Porphyra*)大型红藻总称。紫菜广泛分布于寒带到亚热带的潮间带。中国北到辽宁南至海南都有分布。中国栽培紫菜主要是坛紫菜(南方)和条斑紫菜(北方), 只在浙江两种紫菜都有栽培。目前, 中国紫菜育苗亲本基本上采自野生群体或未经遗传改良的栽培群体, 遗传纯合紫菜品种(系)培育和栽培多处在实验研究阶段。在面临病害频发及产量、质量下降等问题的情况下, 为保障中国紫菜栽培业持续健康发展, 系统的紫菜育种迫在眉睫。但是, 紫菜栽培只有几十年的历史, 其育种还处在初级阶段, 另外, 紫菜的生物学特性不利于育种。作者对紫菜育种的困难进行了分析并探讨了紫菜育种的方法学对策。

1 有效紫菜育种方法较少

1.1 选择育种

传统、朴素的紫菜育种方法是选择育种^[1]。经肉眼比较, 从野生群体或栽培群体中选择性状优良的叶状体个体采果孢子培育丝状体, 再由这样的丝状体形成壳孢子育苗栽培, 重复选择性状优良的叶状体, 直到形成品种(系)。奈良轮条斑紫菜和大叶甘紫菜就是日本紫菜育种者采用选择育种方法获得的优良品种^[2]。选择育种依据的是用肉眼可评价的叶状体个体表现型, 简便易行。但由于性状形成受遗传和环境双重影响, 选择效率低。对不能肉眼直观评价的性状, 虽然可借助仪器通过生理生化分析进行选择, 但选择效率会进一步降低。有两点值得特别说明: 一是到目前为止, 选择育种是唯一取得实效的紫菜育种方法; 二是紫菜选择育种目前还无法依据性状的遗传学基础进行。

1.2 杂交育种与诱变育种

条斑紫菜是雌雄同体, 而坛紫菜一般为雌雄异体。人工杂交可以在雌雄异体种的种内或种间进行, 也可以在雌雄异体种和雌雄同体种的种间进行。雌雄同体种也可以进行种间或种内杂交, 只是杂种

丝状体鉴定困难, 可控性差一些。日本紫菜育种者通过种间杂交, 从杂种自交后代选择出了具有应用价值的紫菜品系^[3]。很明显, 杂种自交后代的筛选仍然是选择育种, 与选择育种存在同样的局限。杂交只是拓宽了遗传变异来源。与杂交育种类似, 诱变育种也只是增加了遗传变异来源, 没有脱离选择育种的范畴。诱变育种利用物理、化学因子或太空宇宙射线使目标物种产生基因突变, 通过选择培育优良品种。紫菜诱变育种仍处在试验性阶段, 尚不能稳定用于紫菜育种。因缺少合适的搭载材料, 航天育种对紫菜而言还只是设想。同样, 优良突变体的选择仍脱离不开选择育种, 因而存在选择育种固有限制。

2 性状遗传基础研究薄弱

2.1 紫菜叶状体群体性状难与特定基因型关联

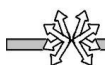
除了有效育种方法少, 紫菜的生物学特性也决定了紫菜育种的困难性。紫菜产量、品质、抗病、抗逆性状是叶状体群体性状, 用单棵紫菜叶状体性状表现代替是不恰当的。而紫菜叶状体群体性状评价是紫菜育种的最大困难所在。紫菜叶状体群体中有些是由不同基因型单倍性细胞形成的嵌合体, 有些是不同基因型单孢子形成的纯合叶状体, 且这些叶状体是由不同代的单孢子形成的。因此, 叶状体群体性状表现难与特定基因型关联起来, 无法做遗传学分析。

野生群体存在这样的困难, 人工选育的基因型一致的丝状体无性繁殖系形成的叶状体群体也存在性状评价的困难。如果这样的丝状体无性繁殖系基因型一致但遗传不纯合, 它形成的叶状体群体与野生群体一样, 包括嵌合叶状体和不同代单孢子形成的

收稿日期: 2006 11-20; 修回日期: 2007 04-27

基金项目: 山东省科技发展计划项目(2005GG3205190)

作者简介: 李秉钧(1963-), 男, 博士研究生, 从事海洋生物遗传学研究, E-mail: li6234307@163.com; 杨官品, 通讯作者, 教授, E-mail: yguanpin@mail.ouc.edu.cn



纯合叶状体。即使丝状体是遗传纯合的无性繁殖系,培育的是遗传纯合的叶状体群体,性状评价仍然困难,因为紫菜是多茬收菜,不同茬的叶状体性状表现肯定不同。同时,收获的叶状体是壳孢子和不同代的单孢子形成的,基因型相同,性状表现也不一定完全一样。

2.2 品种(系)易混杂

在同一海区栽培不同的品种(系),单孢子可能相互串混。相距多远可以回避这样的风险还没有研究过。即使研究清楚了,按照这样的距离海上隔离栽培不同品系也是困难的,因为不同品系难于在相同环境中比较。这是紫菜育种困难性的一个方面。

2.3 获得并维持分离群体难

紫菜育种基于性状的遗传基础,而紫菜性状遗传基础研究又受困于性状分离群体的获得与维持。紫菜性状遗传基础研究首先必须获得性状分离群体。这样的群体在一个遗传座位上只容许有一对等位基因分离,且反映减数分裂形成的比例,而且群体的每一个个体都能形成基因型一致的群体。只有满足这一条件才能将叶状体性状与这一对分离的等位基因关联起来。困难在于如何获得这样的分离群体。遗传纯合的丝状体可以形成遗传纯合的叶状体,叶状体杂交获得遗传杂合的丝状体,然后形成叶状体群体,可这样的群体是不同基因型细胞形成的嵌合叶状体群体,等位基因分离情况不能确定。

若在操作上不遗余力,可以从基因型不同但遗传上纯合的叶状体之间的杂交获得杂合丝状体,进而获得不同基因型细胞嵌合叶状体与基因型不同的单孢子形成的叶状体混合群体。从这样的群体开始,有两条途径可以建立分离群体:一是在第一茬收获前,根据大小确定一组由壳孢子形成的嵌合叶状体,从每一棵叶状体获得一个遗传纯合的丝状体无性繁殖系,最后育苗栽培,评价性状;另一途径是确定一组单孢子形成的纯合体叶状体,从每一个这样的叶状体获得一个遗传纯合丝状体,并根据少数遗传座位上等位基因的分离情况,确定一个符合减数分裂比例的分離群体。这样的丝状体群体可以用来作图,也可以进行经济性状的遗传基础研究。有了这样的分离群体,若再能保证隔离栽培并采用统一的性状评价方法,开展有关研究是可能的。困难在于获得与维持这样的群体过程长,工作量巨大。同时隔离栽培体系和统一的性状评价方法目前还没有形成。

3 遗传纯合紫菜丝状体无性繁殖系是目前紫菜育种的核心

现阶段紫菜育种最核心、最本质的内容是获得遗传纯合的丝状体无性繁殖系。比较成熟地获得遗传纯合紫菜丝状体营养繁殖系的方法有三:一是培

养未成熟优良叶状体小片,诱导形成丝状体无性繁殖系;一是经过原生质体再生,先获得纯合叶状体,再诱导有性生殖,形成纯合的丝状体营养繁殖系;另一方法是原生质体染色体加倍形成丝状体^[2, 12, 13]。这三种方法各有不足。第一种方法不能保证丝状体营养繁殖系的遗传纯合性,后两种方法虽然能保证丝状体的遗传纯合性,但过程长,工作量大。获得了这样的丝状体无性繁殖系,可以进行规模化营养培养^[14, 15],或直接育苗或者接种贝壳育苗栽培^[16~18]。由这样的丝状体形成的叶状体群体遗传上是纯合的,尽管存在壳孢子和不同代单孢子形成叶状体的情况,但只要按照统一的评价方法,进行遗传分析是可能的。

4 紫菜育种方法学建议

紫菜育种不强求完全走陆地作物的路子。应根据不同物种的生物学特点,确定育种策略和目标。作者认为建立隔离品系栽培系统,制定统一的性状评价方法,培育基因型相同的丝状体无性繁殖系并转接贝壳育苗栽培是目前最有效的紫菜育种途径。

4.1 建立品种(系)隔离栽培体系

即使不考虑叶状体群体遗传背景的复杂性,品种(系)性状评价也需要建立品种(系)隔离栽培体系。这样的体系不能像陆地作物那样在有限的面积上划小块完成。即使是陆地作物,也存在花粉串粉的危险,并有相应的隔离措施,尤其是不同品种间。海上近距离栽培,不同紫菜品种(系)会因单孢子串混而使性状评价不准确。不知道多远的距离可以回避这样的危险,即使能回避,也会改变相互比较需要的尽可能一致的环境条件。如果海上比较不行,唯一的有效途径就是建立人工隔离栽培体系,可以在室内,也可以在室外,但必须是相同的环境条件,独立的水体。例如,建立水泥池群,每个小池栽培一个品种(系),水温、营养条件一样,但没有单孢子互混的可能。只有这样才是能系统进行紫菜育种的系统,也是在获得分离群体的情况下,进行遗传学研究的条件。而这样的系统在国内还没有建立。

4.2 确定统一的性状评价方法

尽管叶状体群体由不同基因型细胞嵌合型叶状体、不同基因型、不同代单孢子形成的叶状体组成,但只要遵循统一的规则,产量、抗病、抗逆等性状评价结果还是具有可比性的。用统一的方法进行不同基因型丝状体好坏的比较,以进行选择育种和遗传学研究。例如,可以规定只比较单位面积苗网的第一茬菜的产量和品质,统一海上栽培天数和收获时间等。

4.3 将叶状体嵌合性当作杂种优势利用

紫菜叶状体是不同基因型的单倍体细胞嵌合体。这是紫菜生物学特性,既然存在,就一定有进化

上的意义。条斑紫菜绝大部分是单孢子形成的叶状体,但这样的叶状体与壳孢子形成的嵌合叶状体是否具有一样的生长优势还没有研究过。单孢子叶状体的存在可能对种群生存有好处,但不一定具有生长、抗逆优势。壳孢子减数分裂形成的细胞及这些细胞的有丝分裂后代在叶状体上的分布可能不同,但只要是嵌合体,就可能具有比纯合体更高的生长抗逆优势。从这个角度理解,紫菜育种就没有必要获得遗传纯合的群体,而只要基因型一致就可以了。实际上,果树、林木嫁接利用的就是营养体嵌合形成的杂种优势。有了这样的观点,只要获得基因型一致(遗传上可以不纯合)的丝状体无性繁殖系,最后育苗栽培,就能形成优良品种。这样的育种方法尊重了紫菜生物学特性,使育种操作难度减少到了最低。

将遗传纯合变成基因型一致,提高了紫菜育种的可操作性,也符合选择育种方向。紫菜栽培中,从壳孢子形成的叶状体是少数,绝大部分是单孢子形成的叶状体。这些叶状体可能基因型不一致,但在丝状体基因型一致的情况下,这些叶状体的基因型复杂度已经降低了很多,一个座位上只有两种可能。如果不断重复上述育种过程,每个循环就是一次自交,纯合度会越来越高。获得表现良好且遗传纯合的群体就是选择育种的思路。遗传纯合的叶状体群体是否比嵌合体群体更优良现在还没有研究加以证明。

4.4 从单孢子叶状体获得遗传纯合的丝状体无性繁殖系

至少对条斑紫菜而言,这些单孢子叶状体是杂种一代减数分裂的产物,虽然比例上不好确定,但一定有个体具有最优的基因型,若能固定下来,就相当于高等植物的杂交育种。只要选准了,这就是一个好品种。同时,这样的叶状体是单倍纯合基因型,不论是诱导整个叶状体性成熟,自交形成丝状体,还是诱导小叶状体片性成熟自交形成丝状体,还是单细胞原生质体染色体加倍形成丝状体都是遗传纯合的。相比之下,直接从纯合的单孢子叶状体形成丝状体技术要求不高,更加快捷。

4.5 从单藻落、丝状体段获得基因型一致的丝状体无性繁殖系

参考海带丝状体无性繁殖系挑取幼小丝状体的方法和微藻纯系培养的方法,一定能获得基因型一样的丝状体无性繁殖系。另外,丝状体可以被打断,从一个藻殖段培养成丝状体系也应能获得基因型一致的丝状体无性繁殖系。分离丝状体的时候,可以在果孢子放散之后,先做梯级稀释,然后接种贝壳,形成分开的藻落,最后,挑取藻落单个培养纯系。不论如何做,建立隔离栽培体系和统一的性状评价方

法是紫菜育种目前最需要解决的问题。

参考文献:

- [1] 胡银茂. 紫菜育种研究历史及现状[J]. 宁波教育学院学报, 2006, 8(4): 22-26.
- [2] 曾呈奎. 经济海藻种质苗种生物学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999. 50-90.
- [3] Suto S. Intergenetic and inter specific crossing of the laver (*Porphyra*) [J]. **Bull Jap Soc Sci Fish**, 1963, 29: 739-748.
- [4] Dai J X, Yang Z, Liu W S, *et al*. Seedling production using enzymatically isolated thallus cells and its application in *Porphyra* cultivation [J]. **Hydrobiologia**, 2004, 512: 127-131.
- [5] Yan X H. Intragenic fusion of protoplasts from gametophytic blades and development of fusion products in *Porphyra* sp. (Rhodophyta) [J]. **Journal of Shanghai Fisheries University**, 2001, 10(2): 109-117.
- [6] 陈昌生. 坛紫菜和条斑紫菜的原生质体电融合[J]. 生物工程学报, 1992, 8(1): 65-69.
- [7] Liu H Q, Yu W G, Dai J X, *et al*. Increasing the transient expression of *GUS* gene in *Porphyra yezoensis* by 18S rDNA targeted homologous recombination [J]. **Journal of Applied Phycology**, 2003, 15: 1-7.
- [8] Kuebler J E, Minocha S C, Mathieson A C. Transient expression of the *GUS* reporter gene in protoplasts of *Porphyra miniata* (Rhodophyta) [J]. **Mar Biotechnology**, 1994, 1: 165-169.
- [9] 庞国兴, 王广策, 胡松年, 等. 坛紫菜(*Porphyra hatanensis*) 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): 452-458.
- [10] 杨官品, 沈怀舜, 许璞, 等. 条斑紫菜 cDNA 文库构建及抗病相关基因鉴定[J]. 青岛海洋大学学报, 2003, 33(1): 47-52.
- [11] 杨官品, 张学成, 许璞, 等. 条斑紫菜丝状孢子体表达序列标签分析[J]. 高技术通讯, 2001, 12(2): 93-97.
- [12] 曾庆国, 刘必谦, 杨锐, 等. 坛紫菜单个体细胞克隆的丝状体途径[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 549-552.
- [13] 何培民, 吴维宁. 条斑紫菜抗高温和快速生长细胞株系 HB 的建立及栽培[J]. 实验生物学报, 2003, 36(3): 191-196.
- [14] 谢双如. 坛紫菜优质纯系苗种培育技术研究[J]. 水产养殖, 2005, 2005(3): 60, 63.
- [15] 朱建一, 郑庆树, 陆勤勤, 等. 条斑紫菜丝状体悬浮培养研究[J]. 水产养殖, 1997, 2: 12-14.
- [16] 马斌, 骆其君, 黄燕儿. 坛紫菜自由丝状体发育的诱导试验[J]. 浙江海洋学院学报, 2005, 24(1): 37-40.
- [17] 刘必谦, 曾庆国, 骆其君, 等. 坛紫菜细胞单克隆叶状体途径及海上养殖[J]. 水产学报, 2004, 28(4): 407-412.
- [18] 陆勤勤, 朱建一, 许璞, 等. 紫菜育种开发与应用[J]. 水产养殖, 2004, 25(2): 18-19.

(本文编辑: 张培新)