

$^{60}\text{Co}-\gamma$ 诱变坛紫菜的海区栽培选育 及品质性状初步分析

黄 秋, 左正宏, 李勇斌, 李博文, 陈奕欣

(厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用不同剂量的 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射诱变野生坛紫菜原生质体, 对获得的诱变株进行实验室品质性状初步筛选后, 挑选其中的 6 个样品进行丝状体室内采苗、海区栽培试验、主要品质性状测定及活体吸收光谱检测。结果显示: 总蛋白、藻胆蛋白、叶绿素和活体吸收光谱等在不同紫菜样品间存在显著差异。人工诱变的坛紫菜 No. 5 蛋白质含量为 $(32.89 \pm 1.37) \times 10^{-2}$ (mg/g, 干重), 优良栽培品种 GL1 的蛋白质含量为 $(31.42 \pm 0.94) \times 10^{-2}$ (mg/g, 干重); 叶绿素含量最高的为 No. 9 $(0.636 \pm 0.017) \times 10^{-2}$ (mg/g, 干重), 最低的为 No. 2 $(0.411 \pm 0.022) \times 10^{-2}$ (mg/g, 干重)。藻胆蛋白含量与总蛋白含量呈正相关。

关键词: $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射诱变; 藻胆蛋白; 叶绿素; 活体吸收光谱; 栽培选育; 坛紫菜

中图分类号: Q949.29

文献标识码: A

文章编号: 1000-8160(2006)02-0250-06

坛紫菜 (*Porphyra haifanensis*) 属于暖温带性海藻, 在我国东南沿海均有分布, 是福建省优良海藻栽培品种之一。但坛紫菜品种退化, 品质下降, 造成生长期缩短、病害严重、产量下降。一方面是由于当前海水污染, 气候变暖, 环境恶化对坛紫菜生长影响很大; 另一方面坛紫菜养殖面积不断扩大, 在经济利益驱动下, 提早采苗、忽视育种工作。因此运用生物技术的手段改良坛紫菜品质, 增强抗病能力, 提高产量, 就成为海藻育种科技工作者所面临的任务。选育坛紫菜, 可以通过以下重要指标来确定其品质的优劣: 蛋白质、藻胆蛋白及叶绿素含量, 生长速度、藻体厚度等。蛋白质含量是衡量坛紫菜营养价值的重要指标, 是鉴别紫菜品质的重要参数之一^[1]。叶绿素是坛紫菜重要的光合色素, 含量的高低与藻体本身的营养生长旺盛与否密切相关。藻胆蛋白是紫菜光合作用中重要的辅助色素, 其中藻红蛋白在红藻的捕光色素系统中首先捕获光能, 然后传递给藻蓝蛋白, 进而传递给别藻蓝蛋白^[2]; 藻胆蛋白还可作为藻体细胞的贮存蛋白, 有利于藻类在自然界中的生存竞争^[3]。本文对福建平潭县野生坛紫菜原生质体经不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射诱变后, 经过初步筛选后的第二代进行海区栽培试验, 通过对其生长曲线、藻体厚度及蛋白质、叶绿素、藻胆蛋白含量等品质性状进行定量分析, 其目的就是筛选出产量高、品质优良的紫菜品种。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用坛紫菜来源见表 1。坛紫菜样品于 2004 年 11 月份, 生长 40d 后采集, 采集的叶状体

收稿日期: 2005-06-24

基金项目: 福建省重大农业科技项目 (2001Z017); 国家海洋 863 项目 (2002A603023)

作者简介: 黄秋 (1980~), 男, 硕士研究生。

通讯作者: 陈奕欣 (1949~), 女, 教授; E-mail: chenyx@yanan.xmu.edu.cn

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.

阴干后, -20°C 保存备用.

表 1 坛紫菜样品来源

Tab 1 Source of the *P. haikouensis* samples

样品	性状特征	处理方法	来源
Na 1	抗低渗, 生长速度快	YSH P经低渗 1 010比重筛选	本室保存第二代丝状体
Na 2	生长速度快	YSHT经 900GY 辐射诱变处理	本室保存第二代丝状体
Na 5	藻体薄, 蛋白质含量高	YSH P经 900GY 辐射诱变处理	本室保存第二代丝状体
Na 9	藻体薄, 叶绿素含量高	YSH P经 700GY 辐射诱变处理	本室保存第二代丝状体
No 12	生长速度快	YSH P经 800GY 辐射诱变处理	本室保存第二代丝状体
No 14	叶绿素含量较高	YSH P经 500GY 辐射诱变处理	本室保存第二代丝状体
LPZ	对照	当地普通栽培品种	PT 保存丝状体
YSH	对照	野生坛紫菜	野菜坛采集
GLI	对照	当地优良栽培品种	PT 保存丝状体

注: YSH P表示南海野生坛紫菜原生质体; YSHT表示南海野生坛紫菜叶状体; PT 表示平潭县坛紫菜良种育苗厂

1.2 方法

1.2.1 生长速度及藻体厚度测定 生长速度测定方法: 采苗后第 24天开始, 每隔 5~10d 取样 1次, 测量叶片的长度, 而后绘制生长曲线. 厚度测量: 选取不同天数的叶片, 剪取离假根 2~3cm处的叶片并切片, 在显微镜下测量其厚度.

1.2.2 蛋白质含量测定 采用微波消化纳氏比色法^[4], 具体操作参照董宏坡等 (2004)的方法^[3]

1.2.3 叶绿素含量测定 采用 Jensen (1978)的方法进行测定^[6].

1.2.4 藻胆蛋白含量测定 参照董宏坡等 (2004)的方法^[5]进行测定.

1.2.5 活体吸收光谱的测定 按 Niva等 (1993)的方法进行测定^[7].

1.2.6 统计分析方法 结果表示为平均值 \pm 标准偏差 (Mean \pm SD), 用 SPSS (11.0)软件进行单因素方差分析.

2 结果

2.1 藻体厚度及生长速度曲线

藻体厚度测定结果见表 2 可以看出藻体厚度随着生长天数的增加而变厚, 并且不同样品之间差异比较大. 40d 时不同样品的厚度在 $31.0 \pm 2.1 \sim 49.5 \pm 3.2 \mu\text{m}$ 之间, 56d 的厚度在 $40.0 \pm 1.5 \sim 59.2 \pm 3.3 \mu\text{m}$ 之间, 综合比较 40d 和 56d 的藻体厚度, Na 5 和 No 9 的藻体比较薄.

表 2 40d 与 56d 叶状体的藻体厚度

Tab 2 Thickness of thallus from different porphyra samples after 40 days and 56 days

样品	40d 的厚度 (μm)	56d 的厚度 (μm)
Na 1	$33.5 \pm 2.0^*$	44.9 ± 2.9
Na 2	$49.5 \pm 3.2^*$	$55.5 \pm 2.4^*$
Na 5	$34.2 \pm 1.2^*$	$40.0 \pm 1.5^*$
Na 9	$31.0 \pm 2.1^*$	$42.2 \pm 3.0^*$
Na 12	$34.9 \pm 1.1^*$	44.9 ± 3.4
Na 14	37.6 ± 2.9	$59.2 \pm 3.3^*$
LPZ	43.6 ± 3.5	$58.2 \pm 2.1^*$
GLI	39.5 ± 1.7	48.5 ± 4.3

注: *表示该组样品与 GLI 的藻体厚度间差异显著 ($p < 0.05$)

24~56d的不同样品的生长曲线见图 1, Na 2的生长速度最快, Na 1和 Na 12生长速度次之。根据 40d的长度比较, Na 2, Na 9, No 12与 GL1相比差异显著 ($p < 0.05$); 51d的长度比较, No 1, No 2, No 12, Na 14与 GL1相比差异显著 ($p < 0.05$)。

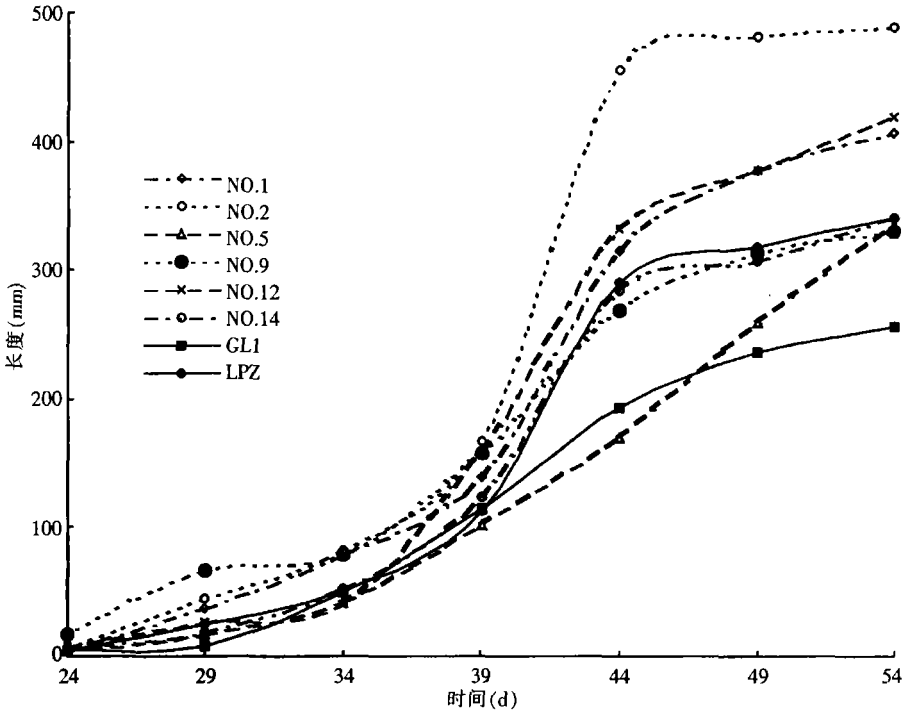


图 1 不同坛紫菜样品的生长曲线

Fig.1 Growing curves of different *Porphyra haitanensis* samples

2.2 蛋白质和光合色素的含量

蛋白质和光合色素的测定结果见表 3 可知蛋白质含量最高的是 No 5 最低的是 YSH, 藻胆蛋白含量最高的是 Na 2, No 1 和 Na 12 的含量次之, 叶绿素含量较高的是 No 9, No 12 和 No 14

表 3 不同坛紫菜样品藻胆蛋白、蛋白质和叶绿素的含量

Tab.3 Contents of phycobiliprotein, protein and chlorophyll in *P. haitanensis* samples

样品	藻红蛋白	藻蓝蛋白	别藻蓝蛋白	藻胆蛋白	蛋白质	叶绿素
No 1	1.737 ± 0.005	1.037 ± 0.025*	0.540 ± 0.043	3.314*	30.52 ± 1.89	0.419 ± 0.013
No 2	1.880 ± 0.009*	1.157 ± 0.038*	0.663 ± 0.010*	3.700*	31.74 ± 0.51	0.411 ± 0.022
No 5	1.745 ± 0.006	0.992 ± 0.136	0.543 ± 0.005	3.280	32.89 ± 1.37*	0.446 ± 0.005
No 9	1.601 ± 0.036	0.942 ± 0.052	0.535 ± 0.050	3.079	30.05 ± 1.23	0.636 ± 0.017*
No 12	1.751 ± 0.031	0.975 ± 0.042	0.597 ± 0.006	3.323*	32.34 ± 1.81	0.552 ± 0.014*
No 14	1.670 ± 0.004	0.994 ± 0.056	0.539 ± 0.050	3.203	29.60 ± 0.56*	0.517 ± 0.013*
LPZ	1.673 ± 0.009	0.887 ± 0.042	0.616 ± 0.019*	3.158	28.76 ± 0.76*	0.506 ± 0.014
YSH	1.684 ± 0.006	0.776 ± 0.046	0.537 ± 0.003	2.996	27.48 ± 0.44*	0.479 ± 0.008
GL1	1.659 ± 0.033	0.874 ± 0.046	0.460 ± 0.049	2.993	31.42 ± 0.94	0.460 ± 0.020

注: 单位: $\times 10^{-2}(mg/m^2 \text{干重})$, * 表示该组样品与 GL1 的相应指标之间差异显著 ($p < 0.05$)

2.3 蛋白质、光合色素含量之间的相关性分析

根据相关测定结果,分析了蛋白质、叶绿素、藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白等性状间的相关系数(表 4)。蛋白质含量和藻蓝蛋白、总藻胆蛋白含量呈显著正相关;叶绿素含量和藻红蛋白、藻蓝蛋白、总藻胆蛋白呈显著负相关;3种藻胆蛋白显著相关。

2.4 紫菜叶状体的活体吸收光谱特征

坛紫菜叶状体的活体吸收光谱特征见图 2 9个样品的活体吸收光谱都显示了 5 个特异的吸收峰,叶绿素 a 有两个主要吸收峰,分别在 662nm 和 430nm 处。类胡萝卜素、藻红蛋白、藻蓝蛋白的主要吸收峰分别在 502nm、565nm 和 615nm 附近。

表 4 坛紫菜品质性状之间的相关系数

Tab 4 Correlation coefficient between traits of *P. haitanensis*

性状	藻胆蛋白	藻红蛋白	藻蓝蛋白	别藻蓝蛋白	叶绿素
蛋白质	0.477*	0.455*	0.466*	0.146	-0.270
藻胆蛋白	-	0.765*	0.875*	0.603*	-0.478*
藻红蛋白	-	-	0.530*	0.503*	-0.536*
藻蓝蛋白	-	-	-	0.281	-0.375*
别藻蓝蛋白	-	-	-	-	-0.106

注: *表示在 0.05 水平上相关显著

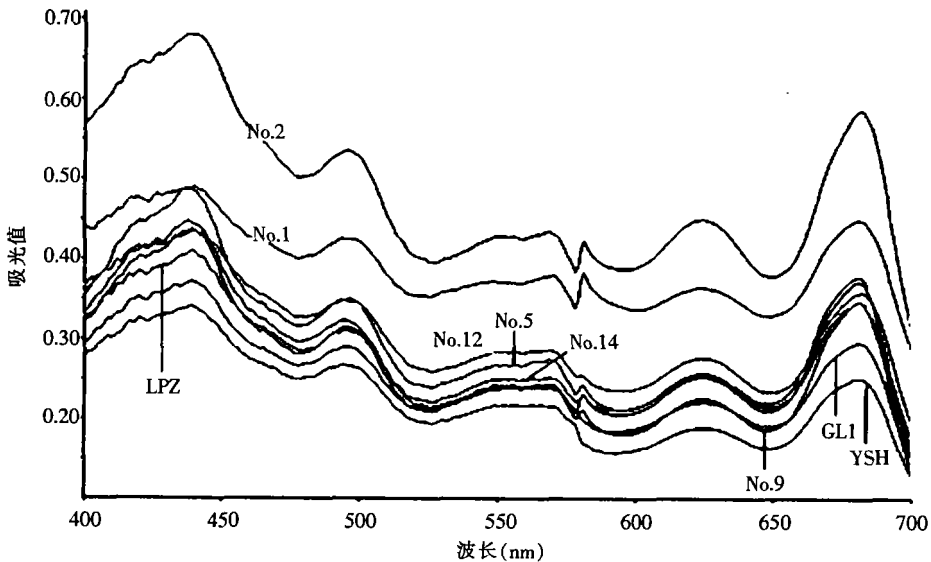


图 2 坛紫菜 No.1、No.2、No.5、No.9、No.12、No.14、LPZ、YSH、GL1 的活体吸收光谱

Fig.2 In vivo absorption spectra of No.1, No.2, No.5, No.9, No.12, No.14, LPZ, YSH, GL1 *P. haitanensis*

3 讨论

从表 2 可以看出,藻体比较薄的是 No.5、No.9 而比较厚的是 No.2、No.14 而藻体的厚薄与紫菜的口感关系非常大。生长速度是决定亩产量多少的一个重要因素,跟生长年份的气候条件、海区环境、海水的营养水平等关系很大。从图 1 可以看出,在相同栽培条件下, No.2 的生长速度最快。

蛋白质含量是衡量紫菜品质优劣的一项重要指标. 从平潭海区采集的诱变处理坛紫菜样品和栽培品种及野生坛紫菜样品中, 每 100g 干品中蛋白质总量在 27.48 ~ 32.89g 之间, 说明其品质之间差异是很大的: No. 1、No. 2、No. 12 的蛋白质含量明显高于普通栽培坛紫菜和野生坛紫菜 ($p < 0.05$), 同时 No. 5 的蛋白质含量也明显高于优良栽培品种 GL1 的 ($p < 0.05$), 说明经过辐射诱变选育, 有可能得到性状优良的新品种. 在栽培坛紫菜中, 经过选育的优良品种 GL1 的蛋白质含量高于常规栽培坛紫菜 LPZ 和野生坛紫菜 YSH, 而以往的数据显示, 野生坛紫菜的蛋白质含量一般都会比栽培品种的高^[5], 因为其生长期比较长, 可是此次却相反, 可能是不同环境因素对生长状况产生不同影响的结果. 上述结果一方面说明自然选择和人工选择对生物性状的影响, 另一方面也表明平潭海区坛紫菜的蛋白质含量这一品质性状还存在较大的改良空间. 与条斑紫菜的蛋白质含量 [$(31.05 \sim 41.96) \times 10^{-2}$ (m/m, 干重)]^[11] 相比, 本实验结果表明坛紫菜的蛋白质含量比条斑紫菜低.

从光合色素中的叶绿素和藻胆蛋白的含量来看, 叶绿素的每 100g 干重含量在 0.411 ~ 0.636g 之间, 藻胆蛋白每 100g 干重含量在 2.996 ~ 3.699g 之间. 光合色素是决定紫菜生长速度的主要因素, 从而也说明这 9 个样品的生长速度及其相关的生长性能可能存在着很大的差异. 从叶绿素含量来看, 最高的为 No. 9 并且其藻体较薄, 有利于进一步深加工和出口, 而且从它的生长曲线来看长得比 GL1 快. 叶绿素不仅与生长速度有很大关系, 并且干紫菜中叶绿素含量的多少跟感官法鉴定紫菜优劣最为一致^[11]. 条斑紫菜的叶绿素含量在 [$(0.3496 \sim 0.6850) \times 10^{-2}$ (m/m, 干重)] 之间, 叶绿素含量跟生长天数关系较大, 先是逐渐增加, 到达最高含量, 而后是逐渐降低^[11], 坛紫菜的叶绿素含量的变化与此相似, 从 GL1 去年与今年的叶绿素含量比较可以看出, 去年的生长时间长, 叶绿素含量也相应的高 [$(0.6175 \pm 0.0169) \times 10^{-2}$ (m/m, 干重)]^[15]. 同时可以看出, 虽然未达到最高含量的时间, 本实验部分样品的叶绿素含量还是比较高的.

藻胆蛋白既是总蛋白质的一部分, 是重要的贮存蛋白, 又是光合作用重要的辅助色素, 藻胆蛋白已被作为鉴定紫菜品质的重要指标. 从表 3.4 看出, 经过诱变选择的坛紫菜的总藻胆蛋白含量要高于栽培坛紫菜的, 具有与蛋白质含量相似的规律性, 两者之间的相关系数为 0.477. 另外, 作者还发现, 叶绿素含量与藻红蛋白、藻蓝蛋白和藻胆蛋白含量呈负相关, 相关系数分别为 -0.536、-0.375、-0.478. 藻红蛋白含量与藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白含量呈正相关; 同时, 藻胆蛋白与其 3 种组分蛋白的含量也呈正相关. 因此, 可以通过测定其中的某项指标来初步确定其生长性能, 同时可以测定多项指标来互相验证以及更加全面的评估某种样品的品质.

9 个样品的活体吸收光谱都显示了 5 个特异的吸收峰, 光谱的特征与严兴洪 (2000) 报道的相同^[8]. 由图 2 看出, 尽管 9 个样品在同一波段下都出现吸收峰, 但样品之间吸收峰值的高低是各不相同的, 反映了经过诱变之后, 它们的光合色素含量发生了改变.

从总蛋白、叶绿素及藻胆蛋白含量 3 种品质性状来看, 这 9 个样品种质之间差异是很大的. No. 2、No. 5、No. 12 的总蛋白含量比较高, 藻胆蛋白的含量也是相应的比较高, 但是 No. 1、No. 2 的叶绿素含量比 GL1 的低.

参考文献:

- [1] 马家海, 张礼明, 吉传礼, 等. 条斑紫菜冷藏网实验及其产品质量分析 [J]. 水产学报, 1998 22(增刊): 66 ~ 71.
- [2] Gantt E. Phycobilisomes ann rev [J]. Plant Physiol, 1981, 32: 327 ~ 347
- [3] 王广策, 曾呈奎. 藻胆蛋白功能的研究 [J]. 生命科学, 1998 10(6): 312 ~ 315
- [4] 曹丽军, 金良正, 张玉英. 微波消化纳氏比色法测定食品中的蛋白质 [J]. 预防医学文献信息, 2001 7(3): 276 ~ 278
- [5] 董宏坡, 左正宏, 王重刚, 等. 福建省平潭海区坛紫菜品质性状的分析 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004 43(5): 693 ~ 696
- [6] Jensen A. Chlorophylls and carotenoids [A]. Stein Taylor J R, Hellebust J A, Craigie J S *et al*. Handbook of Phycoalgae Methods: Physiological and Biochemical Methods [M]. London: Cambridge Univ, 1978: 59 ~ 70
- [7] Nwa K M, Shin J A, Naga Y. Characterization and genetic analysis of the violet type pigmentation mutant of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Korean J Phycol, 1993 8: 217 ~ 230
- [8] Yan X H, Fujita Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Applied Phycology, 2000 12: 69 ~ 81.

Radiation selection and breeding of ^{60}Co γ induced *Porphyra haitanensis* and preliminary analysis on its characters

HUANG Q iu, ZUO Zheng hong, LI Yong-b in, LI Bo-wen, CHEN Yi-x in

(School of Life Sciences, X ian en University, X ian en 361005, China)

Abstract ^{60}Co γ ray was used to induce mutation on protoplast and the radiated protoplast was cultivated and selected. Then the characters of samples cultivated in lab condition were analyzed for initial screening. The second generations of selected samples were cultured in the sea in Pingtan county till samples were collected. The major characters in cultured *P. haitanensis*, the wild *P. haitanensis* and the mutated samples were found different. At the same time in vivo absorption spectra of different samples were compared. The results showed that characters of phycobiliprotein, protein and chlorophyll were distinctly different amount the samples of *P. haitanensis*. Also in vivo absorption spectra from different samples were obviously different. The content of protein in No 5 was $32.89 \pm 1.37 \times 10^{-2}$ (*m g*, dryweight), while the excellent strain of *P. haitanensis* (GL1) which was selected from the culture was $31.42 \pm 0.94 \times 10^{-2}$ (*m g*, dryweight). The content of chlorophyll in No 9 was the highest [$(0.636 \pm 0.017) \times 10^{-2}$ (*m g*, dryweight)] and in No 2 was the lowest [$(0.411 \pm 0.022) \times 10^{-2}$ (*m g*, dryweight)]. The content of phycobiliprotein was positive correlated with the content of protein.

Key words: ^{60}Co γ ray; phycobiliprotein; chlorophyll; in vivo absorption spectrum; selection and breeding; *Porphyra haitanensis*

(责任编辑: 林秀清)