

γ -射线对条斑紫菜和坛紫菜 诱变作用的初步研究

匡梅许璞* 王素娟

(上海水产大学, 200090)

(*江苏省海洋水产研究所, 南通 226007)

摘要 本文主要测定了不同剂量 γ -射线辐照条斑紫菜和坛紫菜体细胞苗后的生长情况。结果表明,两种紫菜均能耐受大范围剂量的 γ -射线辐照,辐照剂量从100—400Gy,对两种紫菜体细胞的生长都有促进作用。条斑紫菜体细胞苗生长的最佳剂量为200Gy,最佳剂量率为12.27 Gy/min;坛紫菜体细胞生长的最佳剂量为100Gy,最佳剂量率为6.13Gy/min。此外,辐照组中,两种紫菜出现多种形态与色素变异体。

关键词 诱变作用,坛紫菜,条斑紫菜, γ -射线

紫菜是重要的经济海藻之一。在传统的方法养殖过程中,常有品种退化、产量和质量下降以及病害的发生等问题,这就要求科研工作者有目的地进行遗传改良。在经历了70年代初至80年代中期的基于自然突变体的选、育种工作后,紫菜的研究已经进入以人工诱变为主的细胞工程育种。迄今在物理因子辐射方面,有紫外线诱导条斑紫菜 *Porphyra yezoensis* [戴继勋等, 1990; 严兴洪, 1992] 的报道;在化学物质作用方面,除了秋水仙素诱导坛紫菜 *P. haitanensis* [严兴洪、王素娟, 1990] 和条斑紫菜 [戴继勋等, 1990] 外,近年,NG(N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍)对条斑紫菜和半叶紫菜华北变种 *P. katadai* var. *hemiphylla* 有深入的研究(许璞, 1997)。

γ -射线具有很强的穿透能力,在高等植物育种研究中,具有很强的生物学效应,在农业上有成功的报道 [Maluszynski, 1990]。 γ -射线在紫菜育种方面的运用尚未见报道。本文以 ^{60}Co 辐照条斑紫菜和坛紫菜体细胞和果孢子,旨在研究 γ -射线对两种紫菜的诱变作用。

1 材料和方法

1.1 种藻的来源和处理

条斑紫菜于1995年1月采自江苏如东海区,坛紫菜于1994年11月采自福建霞浦海区。保存于 -20°C 。于实验前三天取出,室温下海水中复苏,初步挑取健康藻体,静置培养24小时后,转置充气培养,光强 $30\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$,光时12L:12D [王素娟等, 1994]。

1997-06-03收到。

(1)许璞, 1997. 紫菜色素突变体诱导与遗传特征, 博士论文。

1.2 原生质体的分离、收集及培养

复苏培养的种藻,用刀片切除顶端和基部,彻底去除杂质和杂藻,用消毒刀片切碎至约 2mm^2 大小,称重,按照1克藻体加10ml酶液的比例放入酶液,黑暗振荡酶解。镜检有大量圆形细胞释放后,离心,收集。计算原生质体数量和浓度。其中酶液为:1.5%海螺酶+0.5%纤维素酶,0.8M甘露醇(条斑紫菜);1%海螺酶+0.5%纤维素酶,2M葡萄糖(坛紫菜)[王素娟等,1994]。

1.3 不同剂量的 γ -射线辐射实验

γ -射线辐射的剂量、剂量率、距钴源距离和时间如表1所示。

表1 γ -射线的辐射参数
Tab. 1 The radiation parameters of γ -rays

辐射参数	组 别				
	0(对照)	1	2	3	4
剂量(Gy)	0	100	200	300	400
剂量率(Gy/min)	0	6.13	12.27	18.40	24.54
距钴源距离(cm)	—	118.53	83.78	64.14	59.20

注:辐射时间为978"(包括钴源上升和下降的6")。

两种紫菜酶解后的体细胞培养3天后进行 γ -射线辐射。辐射之前镜检仍为单细胞。如表1所示参数重复试验,保持剂量与剂量率恒定不变。材料按约 10^4-10^5 个/ml的密度装入5个20ml的试管中,每个试管10ml,辐射前保证管中体细胞均匀分布。

辐射后经黑暗24小时后,逐渐恢复正常光照($40-50\ \mu\text{mols}^{-1}\text{m}^{-2}$),培养温度为 $15^\circ\text{C}-16^\circ\text{C}$,光周期为10L:14D。

2 结果与讨论

2.1 γ -射线辐射与两种紫菜体细胞的存活率

辐射后,条斑紫菜(培养第4天)与坛紫菜(培养第8天)的体细胞苗的存活情况见表2。

表2 γ -射线对两种紫菜体细胞苗存活率的影响(%)
Tab. 2 The survival rate of two *Porphyra* species affected by γ -rays(%)

组 别	0(对照)	1(100Gy)	2(200Gy)	3(300Gy)	4(400Gy)
条斑紫菜	78.2	75.2	73.8	73.5	70.0
坛紫菜	68.6	65.8	61.9	59.6	56.8

线性回归分析表明,辐射剂量与两种紫菜体细胞的存活率呈线性关系,在100—400Gy内,随辐射剂量增加,存活率呈直线下降;由相关系数 $|r|_{\text{条斑}}=0.9637$, $|r|_{\text{坛}}=0.9967$ 可知,对照组和各组间体细胞苗的存活率具显著性差异。

通过计算相对存活率,作图1。

相对于高等植物而言,紫菜对 γ -射线具有极强的耐受力,1800Gy 的大剂量辐射下,仍有接近半数的细胞可以存活。我们推测是其细胞壁中的组成成份有很强的抗辐射能力。深入的研究具有很大的意义。

2.2 γ -射线辐射对两种紫菜体细胞苗生长的影响

2.2.1 条斑紫菜体细胞苗生长情况

辐射后每7天检查一次,记录其生长情况(图2)。经方差分析,相同的辐射剂量在不同的时间水平上对条斑紫菜体细胞苗的生长具有极显著性影响。培养时间 $F = 1.88229 > P_{0.05} = 0.152999$,表明培养相同的时间在不同的辐射剂量水平上对条斑紫菜体细胞苗的生长具显著性差异。

在辐射剂量、培养时间对苗生长均具显著性差异的基础上,进行的多重检查时间固定到第41天,经计算,剂量为200Gy 组相对其他组(包括对照组)而言,对体细胞苗生长的影响达到极显著水平,所以200Gy 为条斑紫菜体细胞苗的生长最佳剂量,其对应的剂量率12.27Gy/min 为最佳剂量率。图版 I-1 为实验室培养4个月的条斑紫菜。

2.2.2 坛紫菜体细胞苗生长情况

如法记录坛紫菜体细胞苗生长情况(图3)。同样,相同的辐射剂量在不同的时间水平上对坛紫菜体细胞苗的生长具有极显著性影响。培养时间 $F = 2.174446 > P_{0.05} = 0.162472$,表明相同的时间在不同的辐射剂量水平上对坛紫菜体细胞苗的生长具显著性差异。

在辐射剂量和培养时间对苗生长均具显著性差异的基础上,进行的多重检查时间固定到第22天,经计算,第1组相对于对照组和第2组具极显著性差异,相对第3、4组具显著性差异。故100Gy 为坛紫菜体细胞生长的最佳剂量,其相对应的剂量率6.13Gy/min 为最佳剂量率。

2.3 γ -射线辐射对两种紫菜体细胞后代发育和变异的影响

经辐射后,两种紫菜体细胞苗除了多个形态变异体外,还出现了一些色素变异体与嵌合体(图版 I-2)。值得注意的是,在条斑紫菜4个实验组中均出现了对照组中不存在的红色变异体(图版 I-3),其中以200Gy 组突变率最大,达0.88%,并具一些生长、生理特殊性,该种变异体

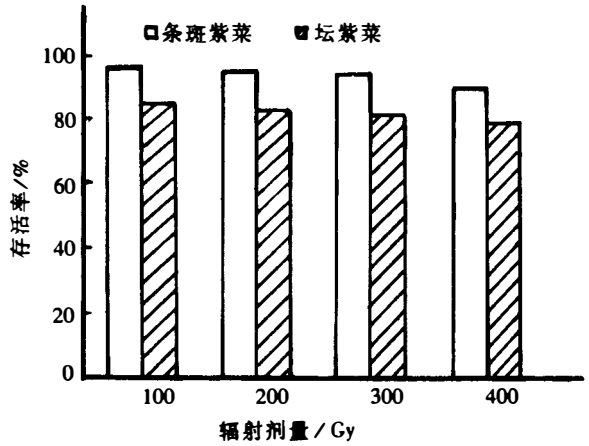


图1 两种紫菜经 γ -射线辐照的相对存活率

Fig. 1 Relative survival rates of two *Porphyra* species radiated by γ -rays

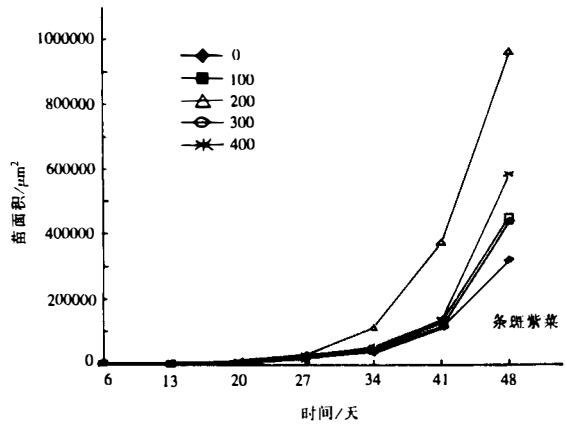
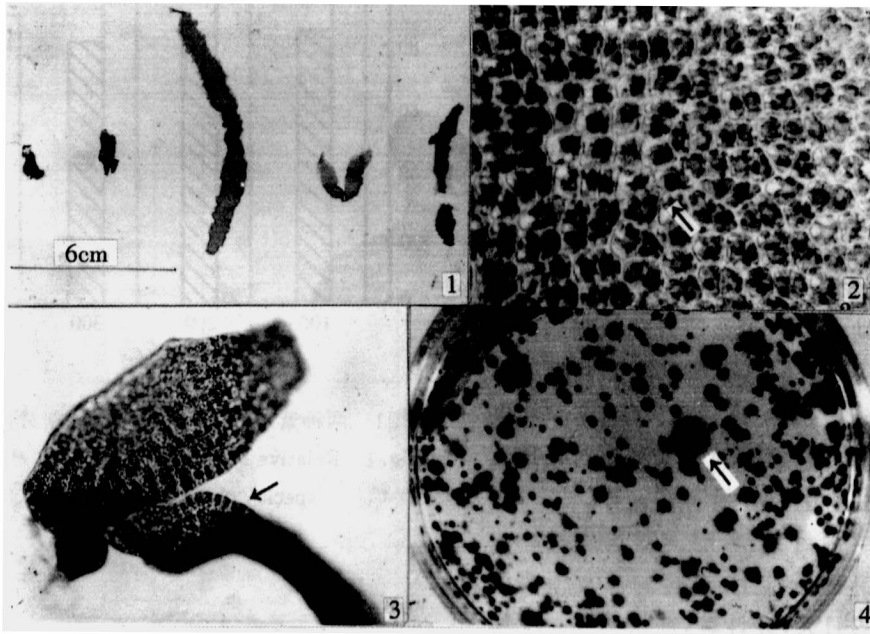


图2 不同剂量射线辐照下条斑紫菜生长曲线

Fig. 2 The growth of *P. yezoensis* radiated by different dosages of γ -rays

具有广阔的应用前景。坛紫菜实验组中,出现了生长明显快于对照组的丝状体青色变异体(图版 I-4),也可能具有显著的应用前景,进一步的试验与验证尚在进行中。



图版 I plate I

1. 条斑紫菜实验室静置培养4个月,从左至右分别为0(对照组),100Gy,200Gy,300Gy,400Gy (γ -射线辐照组);
 2. 条斑紫菜色素嵌合体($\times 268$); 3. 条斑紫菜400Gy 辐照后的正常苗与红色变异苗($\times 67$); 4. 坛紫菜青色丝状体变异体。

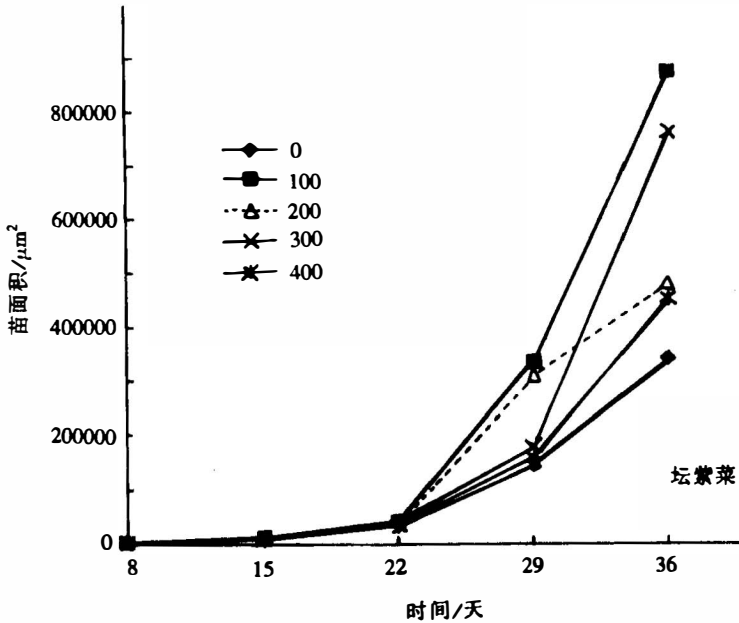


图3 不同剂量 γ -射线辐照后坛紫菜体细胞苗生长曲线

Fig. 3 The growth of *P. haitanensis* radiated by different dosages of γ -rays

上海水产大学渔业学院1996届本科毕业生陈芳蓉参加部分工作,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 王素娟等,1994。海藻生物技术,51-56。上海科技出版社。
- [2] 严兴洪,1992。紫外线辐射与条斑紫菜原生质体后代发育和变异。上海水产大学学报,1(1-2):71-76。
- [3] 严兴洪、王素娟,1990。秋水仙素对坛紫菜体细胞生长发育的影响。海洋科学,(1):24-28。
- [4] 戴继勋等,1990。紫菜原生质体的纯系培育,诱变处理和种间细胞融合的研究。海洋与湖沼,21(3):293-296。
- [5] Maluszynski M. , 1990. Induced mutations—an integrating tool in genetics and plant breeding. In: *Gene manipulation in plant improvement I*, 19th Stadler Genetics Symposium. (Ed.) by J. Perry Gustafson. Plenum Press, New York. pp. 127-157.

A PRELIMINARY STUDY OF THE MUTAGENESIS OF γ -RAYS ON *PORPHYRA YEZOENSIS* AND *P. HAITANENSIS*

Kuang Mei, Xu Pu* and Wang Su-juan

(Shanghai Fisheries University, 200090)

(* Marine Fisheries Research of Jiangsu Province, Nantong 226007)

ABSTRACT The growth of the vegetative cells of *P. yezoensis* and *P. haitanensis* under the irradiation of γ -rays from ^{60}Co was studied in this paper. Results showed that (1)The cells could survive under high dosages of γ -rays; (2)The growth rates of the two species increased affected with the doses from 100Gy to 400Gy; (3)The best dose for *P. yezoensis* was 200Gy, while 100Gy was the best one for *P. haitanensis*. Besides, the various morphological and pigment variants were obtained.

KEYWORDS mutagenesis, *Porphyra haitanensis*, *Porphyra yezoensis*, γ -rays