

国家海洋计划B类项目

海水增殖生物优良种质
和抗病力的基础研究

④

经济海藻 种质种苗生物学

主编 曾呈奎

山东科学技术出版社

国家攀登计划 B 类项目

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究

④

经济海藻种质种苗生物学

主编 曾呈奎

山东科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究,4,
经济海藻种质种苗生物学/主编曾呈奎.—济南:山东
科学技术出版社,1999.9

ISBN 7-5331-2510-X

I. 海... II. 曾... III. ①海产动植物-品种,优良-研究②海产动植物-抗病性-研究③藻类-品种-生物学-研究 IV. S96

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 47841 号

国家攀登计划 B 类项目

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究

④

经济海藻种质种苗生物学

主编 曾呈奎

*

山东科学技术出版社出版

(济南市玉函路 16 号 邮编 250002)

山东科学技术出版社出版

(济南市玉函路 16 号 电话 2064651)

山东新华印刷厂德州厂印刷

*

787mm × 1092mm 1/16 开本 10.75 印张 4 插页 222 千字

1999 年 9 月第 1 版 1999 年 9 月第 1 次印刷

印数: 1—1000

ISBN 7-5331-2510-X

Q·26 定价 33.00 元

山东省泰山科技专著出版基金会

名誉会长 赵志浩 宋木文 陆懋曾 伍 杰

卢鸣谷 董凤基 宋法棠

会 长 陈光林 石洪印

副 会 长 宋桂植 何宗贵 吕可英 车吉心
孙肇琨 王为珍 (常务副会长)

秘 书 长 王为珍 (兼)

副秘书长 尹兆长

理 事 (以姓氏笔画为序)

王为珍 王凤起 尹兆长 刘韶明

李道生 李德泉 张传礼 陈 刚

蒋玉凤

评审委员会 (以姓氏笔画为序)

王思敬 卢良恕 师昌绪 吴阶平

杨 乐 何祚庥 汪成为 高景德

唐敖庆 蔡景峰 戴念慈

山东省泰山科技专著出版基金会
赞助单位

山东省财政厅

山东省出版总社

山东省科学技术委员会

山东科学技术出版社

山东泰山酿酒饮料集团总公司

董事长兼总经理 张传礼

山东金泰集团股份有限公司

董事长兼总裁 刘黎明

国家攀登计划 B 类项目

海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究

总主编 曾呈奎

总编委 (以姓氏笔画为序)

尤芳湖	何宗贵	李永祺	吴宝铃	张培军
杨丛海	相建海	曾呈奎	董昭和	管华诗

经济海藻种质种苗生物学

主 编 曾呈奎

副主编 吴超元

编 委 费修绠 张学成 秦松 张景镛 周海鸥

我们的希望

进行现代化建设必须依靠科学技术。作为科学技术载体的专著，正肩负着这一伟大的历史使命。科技专著面向社会，广泛传播科学技术知识，培养专业人才，推动科学技术进步，对促进我国现代化建设具有重大意义。它所产生的巨大社会效益和潜在的经济效益是难以估量的。

基于这种使命感，自 1988 年起，山东科学技术出版社设“泰山科技专著出版基金”，成立科技专著评审委员会，在国内广泛征求科技专著，每年补贴出版一批经评选的科技著作。这一创举已在社会上引起了很大反响。

1992 年，在山东省委、省政府的支持下，在原“泰山科技专著出版基金”的基础上，由山东省出版总社、山东省科学技术委员会和山东科学技术出版社共同成立了“山东省泰山科技专著出版基金会”，并得到企业界的热情赞助，为资助学术专著的出版提供了更加可靠的保证。

但是，设基金补助科技专著出版毕竟是一件新生事物，也是出版事业的一项改革。它不仅需要在实践中不断总结经验，逐步予以完善；同时也更需要社会上有关方面的大力扶植，以及学术界和广大读者的热情支持。

我们希望，通过这一工作，高水平的科技专著能够及早问世，充分显示它们的价值，发挥科学技术作为生产力的作用，不断推动社会主义现代化建设的发展。愿基金会支持出版的著作如泰山一样，耸立于当代学术之林。

泰山科技专著评审委员会

1992 年 12 月

序

1998年,我国海水养殖生产的总产量已达到860万t,继续居世界各国之首。我为我国海水养殖业已取得的成就感到由衷的高兴。因为这不仅对于振兴沿海地区的经济具有十分重要的意义,而且也向世界表明,中国人民在中国共产党的正确领导下,不仅能养活自己,能吃饱,还能吃好!

但在成绩面前,作为一名老海洋生物科学工作者,我仍感到不满足。因为海水养殖的产量仍未赶上我国淡水养殖,尚落后几百万t。我国有300多万 km^2 的海域,面积比淡水水面大得多;海水养殖每年有望生产出二三千万t的鱼、虾、贝和藻,为人民提供更多质优、味鲜的食品。问题在于在较长时间里,我们对海洋经济动植物的基础研究跟不上生产发展的需要。1993年我国人工养殖对虾大面积死亡,造成重大经济损失。生产上的问题,实际上是技术上的问题,说到底基础理论与产业发展不相适应的问题。这再次提醒我们,如不加大基础研究的力度,我国海水养殖业就难以持续、健康地发展。国家科委关注国民经济建设中面临的亟待解决的重大科学问题,1994年经论证正式批准山东省科委组织申报的“海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究”项目,将其列入国家攀登计划B类项目予以支持,委托山东省科委组织管理,这表明国家对发展海水增养殖业的高度重视。

依据国家科委《国家基础研究重大关键项目管理暂行办法》确定的课题组织原则,从发展我国海洋农牧化的根本需要和长远利益出发,针对我国海水增养殖业存在的突出薄弱环节,围绕种质、病害和生态环境中心问题,设立了7个课题:海水鱼类繁殖、发育和养殖生物学的研究,对虾繁殖和发育生物学的研究,贝类繁殖、变态及附着的有关生物学研究,经济海藻种质种苗生物学研究,增养殖动物的种群和细胞遗传学研究,养殖虾、贝致病机理和病害防治研究,增养殖生态环境的保护与改善研究等。在每个课题下各设立3个专题。组织中国科学院海洋研究所、青岛海洋大学、中国水产科学院黄海水产研究所、国家海洋局第一海洋研究所等4个中央驻鲁单位的优势力量联合开展研究。

5年来,由于各单位领导的大力支持,全体研究人员按照既定目标和计划,齐心协力,力争有所发现,有所创新,因而取得了一批在国际上达到领先或先进水平的研究成果,培养了一批中青年学术带头人,积累了项目管理的丰富经验。研究成果突出表现在以下几个方面:

1. 查明了黑鲷、牙鲆、欧氏六线鱼等鱼类性腺发育过程的形态变化,发现了促进牙鲆性腺发育和成熟的理化因子,以及诱导黑鲷提前性转换的试剂;摸清了盐度、光照、温度和 pH 值等环境因子对真鲷、牙鲆胚胎发育的影响,提出了 Ca^{2+} 在牙鲆精子活动中的作用新假说;通过对鱼胚胎不同发育时期蛋白质成分和含量变化的分析,表明核基因活动的启动以原肠作用开始,新的蛋白质开始合成并进而参加细胞分化过程;查明了真鲷和牙鲆的仔、稚、幼鱼的能量代谢基本特征,掌握了在苗种培育过程中对饲料、温度、促生长剂、密度等的基本要求,为鱼类苗种培育提供了科学的依据。

2. 测定类固醇激素、甲基法泥酯等在对虾组织中的分布及变化,查明了几种常用激素对性腺发育的影响,填补了国内对虾内分泌研究的空白;首次对中国对虾促雄线进行了外部形态和内部结构的研究,表明它对中国对虾雄性外部特征的发育起着重要作用;对中国对虾产卵行为进行了详细观察,发现亲虾心率变化可以准确预报对虾产卵的时间;仔细地观察了对虾精子入卵前的形态变化及胚胎发育全过程,并进行了录像,对胚胎发育的形态学和细胞化学进行了详细观察分析,首次观察到中肠管的形成和胚孔的变化;详细地测定了对虾幼体发育不同阶段对蛋白质、脂肪酸、磷、维生素等的需求,为对虾育苗生产提供了科学依据。

3. 测定了海湾扇贝性腺发育在青岛地区的生物学零度和产卵的有效积温,详细地观察了多种贝类精子和卵子的超微结构,初步建立了鲍的卵黄膜分析模型,研制了贝类卵子去膜剂,为贝类遗传育种提供了关键技术。对从国外引进的墨西哥湾扇贝的发育生物学、生态学进行了全面研究,并将所得结果成功地用于指导广西、海南的该种贝的工厂化育苗生产;成功地得到了泥蚶和毛蚶的杂交稚贝,将泥蚶发育生物学研究成果运用于山东胶南市泥蚶苗种生产,培育出了数千万稚贝;皱纹盘鲍幼虫附着、变态诱导剂的研究,填补了国内的空白。

4. 在国际上首次建立了海带遗传转化模式,并在实验室成功培育出转(蛋白)基因海带,申请了国家发明专利,并在此基础上,进一步优化了海带遗传转化模型中的基因枪转化参数,克隆藻类病毒启动子,构建藻类自身载体,获得海上养成转 CATHBs 基因(乙肝病毒表面抗原基因)孤雌海带,DNA 与蛋白质检测显示外源基因得到整合与表达;利用单克隆技术选育出 2 个优良的裙带菜品系,在山东荣成市海带育苗场进行中试,培育出了 300 个健壮的苗帘,约可供 13hm^2 海面养殖用;建成了紫菜细胞种质库,收集、分离和保存的紫菜丝状体细胞品系有 20 种、120 个品系。1998 年紫菜良种导入生产 400hm^2 ,取得了明显的增产效果,并申请了 3 项国家专利;开展了龙须菜分子

遗传学研究,通过诱变得到了青岛产龙须菜 8 株色素突变体,并运用现代分子生物学技术探讨了龙须菜和江蓠的系统发生。

5. 查清了 41 种海洋经济动物的染色体和核型,发现斑头鱼有性染色体,纠正了国外学者对鹰爪虾的染色体和核型观察的错误;利用细胞流式计等技术对对虾染色体的倍性进行检测,为海洋生物 863 重大项目多倍体育种育苗的立项和顺利实施奠定了基础;鱼类生化遗传研究已达到国际同类研究水平,在同工酶、核 DNA 不同水平上,确立了适合我国国情的检测遗传差异的技术体系,为尽早建立我国海洋动物种质资源的背景开了好头;首次采用 RAPD 等新技术,对引进扇贝和对虾放流增殖的遗传后效进行了评估,找出了区分某些鱼类的分子标记;与上海生物化学研究所合作,开始对中国对虾、中华绒螯蟹 DNA 测序,初步获得了转基因的中国对虾幼体。

6. 查明了造成我国对虾暴发性流行病的病原体是“对虾皮下及造血组织坏死杆状病毒(HHNBV)”,并用人工培养的对虾细胞分离和体外繁殖该病毒获得成功,研制的对虾细胞专用培养基解决了对虾病毒学研究的关键技术问题;对胶东半岛发病的扇贝、鲍进行了大量调查,首次发现、分离了衣原体样生物、原核生物以及几种新的病毒,并对衣原体样生物对栉孔扇贝的致病过程进行了观察和分析;同时对对虾、扇贝、鲍的免疫机能和抗病力开展了深入研究,研制出增强虾、贝免疫机能的饵料和药物。

7. 建立了几种有毒赤潮生物的室内培养、分子生物学测定和赤潮毒素的分析测定技术,对主要有毒赤潮生物与水体富营养化的关系研究取得了突破性进展,开拓了海洋细菌与赤潮藻类相互作用的研究新领域;实验结果表明,有机污染和氨氮增加了对虾对病原体的易感性,也能激活虾体内潜伏的病原体,诱发病害发生,并对其机理进行了探讨,提出了改善环境的生物措施;比较了藻、贝、虾和鱼对有机磷农药的敏感性差异,首次用自由基学说探讨了有机磷农药对海洋生物伤害的机理,发现对虾幼体对某些农药的抗性大于成体,并全面、系统地观察了久效磷农药对对虾各组织细胞超微结构的影响;基本摸清了虾病暴发前后虾池生态系基本要素的变动规律,在能流和物流分析的基础上建立了虾池生态系统框图和数模;对对虾封闭式综合养殖的种类结构优化、生物能量学、氮和磷的利用率等进行了深入研究,提出了最佳综合养殖模式,初步建立了各结构优化系统的能流分析数模。

上述研究成果已陆续撰写成几百篇论文在学术会议上交流、在国内外学术刊物上发表,并得到了好评,不仅对我国当前海水增养殖生产起了指导作用,为我国海洋 863、海洋生物技术的立项和实施奠定了基础,而且扩大了在国际学术界的影响。为满足沿海有关部门生产、科研和教学人员的需要,我们

决定按课题的研究成果编写出版系列专著共 7 卷。

尽管我们取得了上述研究成果,但由于海洋增养殖生物的多样性、海洋生态系统的复杂性、海洋环境的多变性,已取得的成绩还仅仅只能说是好的开头,生产中已有的问题我们还未完全了解,新的问题也将不断出现。可喜的是国家和各级领导已给予了高度的关注,而且通过本项目的实施,一大批中青年科研人员已成长为学术带头人、骨干。

非常感谢国家科技部、山东省科委、各承担单位领导和所有研究人员;感谢李永祺、相建海同志和项目专家委员会、项目办公室全体同志;特别要感谢山东科学技术出版社为保证系列专著出版质量所付出的辛勤劳动!

项目首席科学家

曾呈奎

1999 年 8 月于青岛

前 言

世界人工栽培的海藻有十几属 20 多种，总产值约 30 亿美元。中国海藻栽培工作几百年前就开始了，采用古老的、效率很低的方法。迄今商品化的栽培只有 10 属 12 种，其中产量较高的有海带、裙带菜、紫菜和江蓠 4 个属 6 个种。

20 世纪 20 年代后期，海带在无意中由日本北海道被动地引进到中国大连。当时侵占大连的日本人看到海带能够在大连繁殖，就组建了养殖场，利用投石增产方法，发展了海带栽培事业。20 世纪 40 年代烟台解放后也办起养殖场，试验海带的栽培。20 世纪 50 年代初期，青岛解放后不到 1 年，也从烟台运来海带试养，办起了养殖场，1952 年，运用几位青年工作者创造的筏养海带方法，取得了一定的成功，但度夏是一个难关。可以认为现代的海藻栽培事业是 50 年代开展起来的，而且由于海带栽培事业的成功，引起了海洋动物的养殖研究热潮。

海带度夏有两大问题：第一，青岛夏季，海水表层温度一般达到 27°C ，有时候甚至达到 28°C ，而海带是一个冷温带生物，一般只能忍受 25°C ，超过这个温度一定时间以后，海带就会死亡。第二，度夏过了，水温下降到 20°C 及以下，海带表层就会生长许多生物，包括植物的水云、浒苔、扇形硅藻和动物的藤壶、贻贝、苔藓虫等。我们在 1953 年做了一次试验，在 1954 年晚春初夏开展了低温育苗度夏的栽培，成功地创造了海带夏苗培育法。在实验室内，在低温（ 10°C 左右）条件下培养海带夏苗，到秋天海水温度从夏季的 27°C 降到 20°C 左右，把夏苗从冰箱房取出来，培育在海水里，海带生长很快，11 月底 12 月初可长到十几至 20cm 长，就分苗夹到苗绳上，再下海栽培，第 2 年夏天来临之前收割，产量能比旧方法增产约 1 倍。这个培育法具有 3 个优点：第一，避免了度夏杂藻及动物的附着干扰；第二，提高了产量，一般可以增产 60%；第三，改善了人工分苗的劳动条件，由最冷的 1 月底 2 月初提前到 11 月底 12 月初分苗。

我们还成功地利用了陶罐的多孔性创造了陶罐施肥法，证明在山东多数海区里，海带生长不好的主要原因是缺少氮肥，只要向栽培海区增施氮肥，就可以很好生长。本项研究成果使海带养殖事业不但在少数肥区，还能在广大的海域发展起来。经过进一步研究，还把商品海带养殖发展到长江以南的浙江、福建这些肥沃的亚热带海域，在这里，不再考虑夏季水温多高，而只

考虑冬春季低温季节多长,是否能使其达到商品标准问题。这样在 1997 年,我国的海带生产达到了年产鲜品约 300 万 t,每 hm^2 产量可达到 450t。我国传统的海带食用方法很简单,一般是用以炖肉、凉拌或做汤。海带的蛋白质含量只有 10%左右,如果能够提高蛋白质的含量,则可以大为改善我国人民的蛋白质需求。这就需要在海带转基因研究上下功夫。因此,海带的分子生物学生物技术研究必须提到日程上来。本书的第一章就是讨论这个问题。

裙带菜也是中国、日本和韩国人民的一种食品,日本和韩国是裙带菜的主要生产国和消费国。裙带菜的生活史及栽培方法与海带相似,但其适应的温度略为高些,因此,配子体及幼体的培养不需要低温设备。裙带菜当前的主要问题也是苗种问题。我国也有自己的裙带菜种类,生长在浙江沿海,但栽培的种类过去是来自韩国的济州岛,现在却是来自日本种类。我国生产的裙带菜主要供应日本客户。日本人很喜欢裙带菜,自己生产的还不够用,还要从韩国和中国进口。我国年产裙带菜约有 2 万 t 干品,约等于鲜品 14 万 t,栽培方法也应用日本的。但我们相信,我们中国人也会越来越喜欢食用裙带菜,它在中国的市场上会有很好的前途。

裙带菜的苗种及栽培研究应当提到日程上来,使裙带菜的栽培能真正地中国化。最好的苗种培养方法就是用单倍体克隆的方法,培养适合于我国环境的品系和幼苗。本书的第二章就是讨论裙带菜的生物学及其栽培方法。

我国沿海人民食用紫菜已有上千年的历史,紫菜的栽培生产也有几百年的历史,但旧的清礁栽培方法很简单也很被动,因为没有种子,只靠天吃饭,在清理岩礁之后,得等待自然恩赐孢子,紫菜才能在岩礁上生长起来。因此,开展紫菜栽培研究,首先必须解决栽培上的孢子来源问题。为此,我们在 1952 年开展了紫菜生活史的研究,1954 年胜利地完成研究并成功地进行了半人工和全人工的紫菜栽培,为 60 年代初期全国有关科技工作者在福建进行的坛紫菜栽培打歼灭战奠定了基础。

紫菜是高品质食品,食品价值较高,是目前世界上人工海藻栽培业中经济价值最高的一种海藻,产值约占全年海藻总产值的 $2/3$,约达 20 亿美元。但当前单位面积产量较低,每 hm^2 产量只有几百至一千几百 kg 干品。我国现在年产还不到 2 万 t 干品,约等于鲜品 20 万 t。虽然紫菜主要产于东亚的日本、韩国和中国,但销售已全球化。美国现在也开始进行紫菜栽培研究,不久还会有许多国家要发展紫菜养殖事业。

目前紫菜栽培的主要问题是良种化和育苗的不稳定问题。几个主要紫菜生产国家都是根据几十年前提出来的方法,采用从紫菜群体获得果孢子,种在贝壳里的育苗传统技术。我们必须从这些传统技术中解放出来,而改用适

应市场经济和适合于种植地方的紫菜纯系。我们还必须应用不用贝壳的新的育苗技术,加速育苗过程的全面人工调控。本书的第三章就是要讨论紫菜栽培的传统技术和新技术。

江蓠是我国第4种大量培养的海藻,产量可能也只有几千t干品,几万t鲜品,用途是作为琼胶的原料,但也是一种良好的食品及培养动物的饲料。从琼胶的原料角度看,江蓠属中以龙须菜的琼胶质量和产量最高。因此,在我们的栽培计划中,选择了龙须菜代表江蓠属的海藻。

江蓠属海藻的果孢子萌发后成为多细胞的盘状体,经过几个月后才生长出直立体。因此,江蓠属的栽培多利用藻体进行无性繁殖生产,一茬可以增长几十倍上百倍。在海南岛,细枝江蓠刘氏变种可以在静水条件下生长,因此,就在海边的养鱼池(鱼鳃)内培养这种江蓠。在黄渤海,江蓠属的龙须菜生长良好,但其生长最适宜水温在 $12\sim 22^{\circ}\text{C}$ 之间。在黄渤海区,海水温度最低到 2°C ,最高到 28°C ,因此,每年要栽培两次,一次避开冬季及初春的水温低于 12°C 的低温季节,一次避开夏季水温高于 22°C 的高温季节,而把种苗保存在 $12\sim 22^{\circ}\text{C}$ 的环境里,一年中,能够栽培生长的时间,每次只有3个月。我们在福建连江到广东省湛江市作了栽培试验,只要一次避开夏季 22°C 以上的高温季节,龙须菜生长速度就高于黄渤海区。若能提高龙须菜适宜生长的温度,就可以在我国长江以南大力发展我国的江蓠栽培生产,我国的琼胶工业就不愁没有原料了。本书的第四章就是要讨论龙须菜的生物学及其栽培问题。

总而言之,当前海藻生产的关键在于苗种,有了合适的苗种,我们的海藻栽培事业就会大发展起来,不但可以解决食物的问题,还可以解决有关工业上的原料问题。

1994年攀登计划B类项目“海水增养殖生物优良种质和抗病力的基础研究”立项后,经过近5年的努力,取得了重要成果,完成了预期的任务。该项成果的推广将为我国大型经济海藻人工栽培事业做出新的贡献。本书是在该成果的基础上撰写的,也是该项成果的总结。全书共分四章:第一章为“海带蛋白质改良基因工程技术”,第二章为“裙带菜的人工养殖及新品系培育”,第三章为“紫菜的苗种生物学基础”,第四章为“龙须菜研究的新进展”。

本书还适当地介绍了我国海藻栽培的科学技术及国外有关海藻栽培概况,希望能对我国海藻生产、教学及科研工作有所裨益。

本书的编写是在山东省科委、山东科学技术出版社和山东省泰山科技专著出版基金会的组织和支持下得以完成的,对此,课题组全体成员深表衷心

的感谢。在编写过程中得到中国科学院海洋研究所周显铜、刘海航、于义德、周海鸥等同志协助，部分插图由李士玲同志绘制，在此一并致谢。

作者

1999年6月

目 录

第一章 海带蛋白质改良基因工程技术	1
第一节 藻类基因工程技术	1
第二节 海带基因工程技术产生的背景	6
第三节 海带基因工程技术	7
第四节 海带蛋白质改良基因工程技术	24
第二章 裙带菜的人工养殖及新品系培育	26
第一节 裙带菜生物学	26
第二节 裙带菜的人工养殖	31
第三节 裙带菜新品系培育的研究	45
第四节 裙带菜人工养殖业展望	49
第三章 紫菜的苗种生物学基础	50
第一节 紫菜的育种和育苗	50
第二节 紫菜丝状体的生长发育	53
第三节 紫菜叶状体的生长发育	57
第四节 紫菜丝状体细胞种质的分离、纯化和保存	61
第五节 紫菜细胞种质库	66
第六节 良种紫菜导入生产	70
第七节 紫菜贝壳丝状体的高效育苗	73
第八节 紫菜丝状体细胞工程化育苗	79
第九节 紫菜叶状体细胞工程化育苗	84
第十节 紫菜细胞工程育种	88
第四章 龙须菜研究的新进展	91
第一节 导言	91
第二节 龙须菜细胞遗传学研究	95
第三节 龙须菜及其突变体藻的光谱性质及荧光动力学	99
第四节 龙须菜及其突变体藻胆蛋白的光谱性质	104
第五节 龙须菜及其突变体藻胆体的光谱性质	108
第六节 龙须菜 α -半乳糖苷酶活性的研究	116
第七节 不同世代、不同性别及不同季节龙须菜琼胶特性的比较	119
第八节 龙须菜分子遗传学研究	123
参考文献	139

第一章 海带蛋白质改良基因工程技术

新中国成立以来,我国建成了世界上规模最大的海带栽培业,海带干品年产量达到30万t,相当于世界海藻总产量的1/2。海带已成为高产、稳产的海洋作物。常规遗传育种培育出一系列高产、早熟、耐高温的海带新品种,推动海带生产由1952年的约10t干品迈上了现在的台阶。目前海带栽培的中心仍是“种”的问题,即怎样利用高新技术手段改良种质,使其成为廉价、高效、安全的生物反应器,实现海带产业的再次飞跃。

第一节 藻类基因工程技术

藻类基因工程技术是指通过基因操作获得藻类新品种、基因表达产品或其他服务的工程技术。自从1973年重组DNA首次在大肠杆菌中表达以来,基因工程研究得到迅速发展,尤其是在微生物和农作物两个领域,新品种和目标产品均已实现产业化,创造了数百亿美元的经济效益。基因操作包括基因重组、基因转移、基因及其表达检测等操作。整个过程主要包括:重组DNA,即将外源基因与特定的表达调控元件、选择标记等重新组合构建载体,再通过遗传转化、微注射、接合转移等基因转移技术导入受体细胞中,使载体自主复制并使外源基因表达,或使载体与受体染色体DNA重组,使外源基因随染色体一起复制并表达。基于上述基本原理,需要研究确定适用于藻类的元件和方法,同时从藻类中发掘有用元件,探索新方法,逐步建立有关技术。在此基础上克隆有应用价值的目的基因,构建高效载体,建立藻类表达系统。

藻类基因工程开始于70年代初,首先在淡水蓝藻中开展,80年代初开始在海洋蓝藻中进行。进入90年代以来,随着以海带为代表的大型海藻基因工程操作的可行性被证实,藻类基因工程技术得到迅速发展。

藻类基因工程技术研究的特点在于:多数藻类含有丰富的营养物质和生物活性物质,有些藻类具有耐受极端环境条件的能力,因此藻类可用作目的基因库;在蓝藻、红藻及硅藻中发现了质粒,经改造后可作为基因工程的载体,藻类病毒也有希望成为新型载体,藻类基因工程具有较大潜力;由于密码子的偏向性和启动子的通用性,藻类可能成为植物基因表达的宿主,特别是大型海藻,有希望成为廉价高效、规模宏大的生物反应器,生产有用物质或清除海洋污染。

一、藻类有用基因的研究

1. 基因组图谱的绘制

基因组图谱是分离、克隆有用基因的基础。已得到蓝藻鱼腥藻 *Anabaena* PCC 7120 的物理图谱,定位了30个基因座位(Bancroft等,1989)。得到了2.7Mb的蓝藻聚球藻 *Synechococcus* PCC 7002 的基因组物理图谱,确定了21个基因或操纵子的相对位置