

扁浒苔 PCR 快速检测方法研究

段维军¹, 郭立新¹, 陈先锋¹, 朱水芳², 朱文荣³

(1. 宁波出入境检验检疫局 技术中心, 浙江 宁波 315012; 2. 中国检验检疫科学技术研究院 动植物检疫研究所, 北京 100121; 3. 象山旭文海藻开发有限公司, 浙江 宁波 315040)

摘要: 扁浒苔(*Ulva compressa*)能够导致绿潮灾害, 对其开展快速检测技术研究是预防和控制其危害的重要技术手段。根据石莼属不同种类核糖体基因转录间隔区域(ITS)的序列设计了一对检测扁浒苔的特异性引物, 并对其反应条件和体系进行了优化。PCR 特异性检测结果表明, 供试扁浒苔均扩增出与预期大小相一致的 330 bp 产物, 而对缘管浒苔(*Ulva linza*)、浒苔(*U. prolifera*)、曲浒苔(*U. flexuosae*)、孔石莼(*U. pertusa*)的检测结果全为阴性。PCR 灵敏度试验表明, 该 PCR 体系最低可以检测到 10 pg 的扁浒苔 DNA 模板。本快速检测方法为扁浒苔的早期识别与有效治理提供了科学依据, 对相关扁浒苔产业和生态学等研究也具有一定参考意义。

关键词: 扁浒苔(*Ulva compressa*); PCR; 检测

中图分类号: Q789

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)01-0030-06

石莼属(*Ulva*), 也称浒苔属(*Enteromorpha*)^[1], 隶属于绿藻门(Chlorophyta), 绿藻纲(Chlorophyceae), 石莼目(Ulvales), 石莼科(Ulvaceae)。广泛分布在世界范围的海洋中, 有的分布在半咸水或江河中, 常生长在潮间带岩石上或石沼中, 或泥沙滩的石砾上, 有时也可附生在大型海藻的藻体和船舶外壳之上^[1-4]。中国江苏、广东、浙江、辽宁、福建、香港等沿海地区均有出产^[5]。国外日本、菲律宾、马来西亚、美国、印尼、澳大利亚、印度、新西兰等地也有其生长记录^[4,6-11]。

扁浒苔(*Ulva compressa*)是石莼属的一种。在东南亚地区, 可以食用, 也可作药用^[12-14]。在生态学上, 扁浒苔由于其富集重金属的能力而作为重金属污染指示生物^[15]。此外, 扁浒苔等石莼属绿藻也可以单独或者共同造成绿潮灾害^[6,16-17]。

2007~2010 年, 中国黄海海域连续发生石莼属大型海藻异常繁殖生长形成的绿潮灾害, 对当地海洋生态系统、资源、环境与沿海经济造成了不同程度的影响。据国家海洋局报告统计, 仅 2008 年由绿潮在黄海地区所造成的直接经济损失即达 13.22 亿元^[18]。作者研究表明, 此次绿潮由多种石莼属混合造成, 其中就包括扁浒苔^[19]。

绿潮藻种的快速准确鉴定是防控其危害的首要前提条件之一, 但是扁浒苔等石莼属绿藻个体微小, 生活形式多样, 在绿潮爆发早期很难准确鉴定、检测

和监测。对其开展快速检测技术研究有助于绿潮预防、监测、控制等工作的开展, 同时也可用于食品等扁浒苔相关产业有效成分识别和生态学方面的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试分离物

供试石莼属绿藻采集于 2009 年, 均采用母藻细断法^[20]进行分离, 利用 PES 培养基培养。培养条件: 光暗周期为 12 h/12 h, 光照强度为 8000 lx, 培养温度为 20 。供试分离物信息见表 1。

1.1.2 仪器和试剂

PCR 仪为 Biometra 公司生产的 TProfessional Basic 型、生物分光光度计为日本日立公司生产的 U-0080D 型、电泳设备和凝胶成像系统均购自伯乐(Biorad); Taq 酶、MgCl₂、10 × PCR buffer、100 bp DNA Ladder Marker、DNA 片段纯化试剂盒和凝胶纯化试

收稿日期: 2011-04-23; 修回日期: 2011-06-29

基金项目: 中国检验检疫科学技术研究院基本科研业务费专项资金资助项目(2009JK002); 国家质检总局科研项目(2011HK181); 浙江省重点科技创新团队项目(2010R50029)

作者简介: 段维军(1977-), 男, 博士, 从事有害生物识别与检测技术研究, E-mail: weijunduan@yahoo.com.cn; 朱水芳, 通信作者, E-mail: zhushf@netchina.com.cn

表 1 供试分离物

Tab. 1 Isolates used in this study

样品名称	采集地	种类
QD1、QD4	山东青岛	缘管浒苔(<i>Ulva linza</i>)
QD2	山东青岛	浒苔(<i>U. prolifera</i>)
NB11	浙江宁波	
QD3、QD6、QD7、QD9、QD10、QD12	山东青岛	扁浒苔(<i>U. compressa</i>)
NB4	浙江宁波	曲浒苔(<i>U. flexuosae</i>)
QD5、QD8	山东青岛	孔石莼(<i>U. pertusa</i>)

剂盒均购自宝生物(Takara); pGEM®-T Easy Vector systems II 购自 Promega; 实验用引物由上海英俊合成; 其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

参照 Coyer 等^[21]的方法并加以改进, 称取 0.1~0.2 g 左右的单株藻体放入 1.5 mL 离心管中; 加少量 PVP, 灭菌石英砂和 200 μ L 65 $^{\circ}$ C 水浴预热的 CTAB 抽提液(2% CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mmol/L EDTA, 100 mmol/L Tris-HCl pH8.0), 研磨至匀浆; 加入 400 μ L 预热 CTAB 抽提液, 颠倒混匀后于 65 $^{\circ}$ C 水浴 1 h; 冷却至室温后, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液至另一离心管中; 加入 1/2 体积(300 μ L)的 Tris 饱和酚及 1/2 体积(300 μ L)的氯仿: 异戊醇(24: 1), 颠倒混匀后静置至其开始分层; 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液至另一离心管中; 加入等体积氯仿: 异戊醇(24: 1), 轻轻颠倒混匀; 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液至另一离心管中; 向上清液中加入等体积异丙醇, 轻轻颠倒混合均匀后于 -20 $^{\circ}$ C 沉淀 1 h; 12 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 加 500 μ L 70%乙醇悬浮沉淀; 12 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 室温干燥, 加 50 μ L 无菌水溶解沉淀, 采用石莼属 ITS 通用引物进行扩增验证后, -20 $^{\circ}$ C 贮存备用。

1.2.2 引物设计

参照 Hayden 等^[1]方法, 选用针对石莼属 ITS 区的通用引物 18S 1505 和 ENT 26S, 对供试材料基因组 DNA 进行扩增。经琼脂糖凝胶电泳检测后, 使用 DNA 片段纯化试剂盒(Takara)和 pGEM®-T Easy Vector systems II(Promega)对 PCR 产物进行回收纯化和克隆, 菌液送上海英俊测序。

用 MEGA 4.0 软件对测得的序列及从 GenBank 上获得的石莼属序列[*U. araskii* (AB097650)、*U. armoricana* (AB097661)、*U. compressa* (EU933981)、

EU933974、AB097641、AF035350)、*U. fasciata* (AY260567、AB097650、AB097650)、*U. lactuca* (AB097651)、*U. linza* (AY260557、AB097649、AB298633)、*U. ohnoi* (AB116031)、*U. pertusa* (AB097658、AY260568)、*U. procera* (AY422521)、*U. prolifera* (AB298312、AB298314、AJ234304、AY422510)、*U. reticulate* (AB097665)、*U. rigida* (AY422522)、*U. scandinavica* (AB097659)、*U. spinulosa* (AB097666)、*U. taeniata* (AY422525)]进行序列分析, 选择扁浒苔 ITS 区域中与其他种类有较大差异的区域, 根据引物设计的一般原则, 用 Primer Premier 4.0 软件设计引物, 通过筛选最终确定一对引物。其中正向引物 Ucm6f 序列为: 5'-CGT TTT CGG AAC CGC CGG TGA-3', 反向引物 Ucm2r 序列为: 5'-GGC CAG GTC CAC GGC CCG CTC T-3'。

1.2.3 PCR 扩增反应的优化

以 DNA 提取步骤中获得的扁浒苔分离物 QD3 基因组 DNA 为模板, 分别对 PCR 反应条件中的温度、时间及循环次数等以及 PCR 反应体系中的镁离子浓度、dNTP 浓度、Taq DNA 聚合酶浓度、引物质量浓度进行优化。反应体系的优化试验设计见表 2。

PCR 反应结束后点样于 2%琼脂糖凝胶中电泳, 根据条带的有无、以清晰程度和特异性来确定各影响因素的最终浓度。

1.2.4 PCR 反应的特异性

采用优化后的反应体系和条件对表 1 中供试分离物 DNA 进行 PCR 扩增, 以灭菌双蒸水作为阴性对照。

1.2.5 PCR 反应的灵敏度

用生物分光光度计测定扁浒苔分离物 QD3 基因组 DNA 的浓度, 并将其制备为 25 μ L 反应体系中分别含有 100 ng、10 ng、1 ng、100 pg、10 pg 核酸的 PCR 反应液。以上述 5 个不同浓度的扁浒苔基因组

表 2 PCR 扩增反应体系的优化

Tab. 2 Optimization of PCR reaction

影响因子	镁离子 (mmol/L)	Taq DNA 聚合酶 (U)	dNTP (mmol/L)	引物 (nmol/L)
1	1.0	0.5	0.05	100
2	1.5	1.0	0.10	200
3	2.0	1.5	0.2	400
4	2.5	2.0	0.25	800
5	3.0	2.5	0.3	1000
通用反应体系	1.5	1.0	0.2	400

DNA 为模板, 采用优化后的 PCR 反应体系和条件进行扩增。

用 DNA 凝胶回收试剂盒(Takara)纯化回收特异性 PCR 产物, 将 PCR 产物克隆至 pGEM®-T, 阳性克隆菌送上海英俊进行测序。

2 结果

2.1 DNA 提取

采用石莼属 ITS 通用引物^[1]对提取 DNA 进行扩增的结果表明, 所有样品均能有效进行扩增, 且条带清晰, CTAB 法适合该类绿藻的 DNA 提取。

2.2 PCR 扩增反应的优化

通过对 PCR 反应温度、时间及循环次数等进行优化, 最后确定 PCR 反应条件为: 94 °C, 预变性 2 min; 94 °C, 变性 30 s, 60 °C, 退火 40 s, 72 °C, 延伸 40 s, 34 个循环; 72 °C, 延伸 10 min。25 μL PCR 反应体系中各成分的最佳反应浓度为 Mg²⁺1.5

mmol/L, Taq DNA 聚合酶 1 U, dNTP 0.2 mmol/L, 正反向引物各 400 nmol/L。

2.3 PCR 反应的特异性

采用设计的引物和优化后的反应程序和体系, 对表 1 中各分离物 DNA 进行 PCR 扩增, 结果 6 份扁浒苔 DNA 样品均出现一致的 330 bp 特异性条带, 而其他 DNA 和阴性对照均未出现任何扩增条带(图 1)。

2.4 PCR 反应的灵敏度

扁浒苔 PCR 反应灵敏度实验结果见图 2。经过灵敏度试验测定, 25 μL PCR 反应体系最低能够检出 10 pg 扁浒苔 DNA 模板。

2.5 测序结果与序列分析

经测序与 NCBI 上序列 Blast 比对分析, 证实了 PCR 实际扩增产物与预期设计大小 330 bp 相符, DNA 序列与引物设计模板 ITS rDNA 基因对应片段的同源性和为 99%。

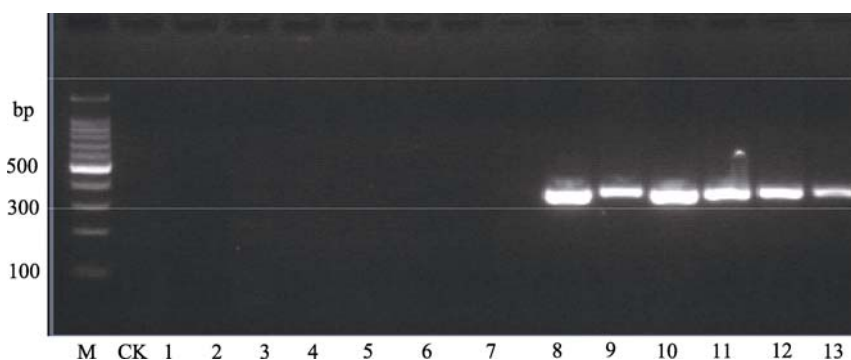


图1 PCR特异性检测实验结果

Fig. 1 The results of PCR specificity

泳道M. 分子标记100 bp DNA Ladder Marker; 泳道CK. 阴性对照; 泳道1. QD1; 泳道2. QD4; 泳道3. QD2; 泳道4. NB11; 泳道5. NB4; 泳道6. QD5; 泳道7. QD8; 泳道8. QD3; 泳道9. QD6; 泳道10. QD7; 泳道11. QD9; 泳道12. QD10; 泳道13. QD12

Lane M. 100 bp DNA Ladder Marker; Lane CK. Negative control; Lane 1. QD1; Lane 2. QD4; Lane 3. QD2; Lane 4. NB11; Lane 5. NB4; Lane 6. QD5; Lane 7. QD8; Lane 8. QD3; Lane 9. QD6; Lane 10. QD7; Lane 11. QD9; Lane 12. QD10; Lane 13. QD12

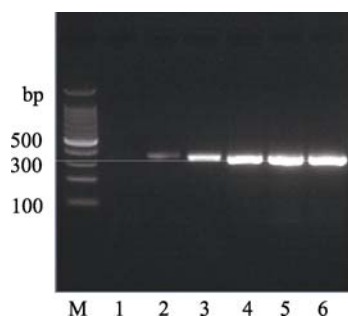


图2 PCR检测DNA的灵敏度结果

Fig. 2 Sensitivity of the PCR detection

泳道M. 分子标记100 bp DNA Ladder Marker; 泳道1. 1 pg; 泳道2. 10 pg; 泳道3. 100 pg; 泳道4. 1 ng; 泳道5. 10 ng; 泳道6. 100 ng
Lane M. 100 bp DNA Ladder Marker; Lane 1. 1 pg; Lane 2. 10 pg; Lane 3. 100 pg; Lane 4. 1 ng; Lane 5. 10 ng; Lane 6. 100 ng

3 讨论

石莼属种内划分的传统方法是依据形态学特征进行分类, 由于石莼属具有种类多、分布广、形态特征复杂, 而且许多形态特征随着环境的变化而不稳定的特点, 因此, 传统的形态分类常引起分类系统的不稳定或意见分歧, 难以准确鉴定石莼属内种类^[11,22]。如 *U.intestinalis* 通常没有分枝, 而 *U.compressa* 有分枝, 但是低盐或盐休克可以诱导 *U.intestinalis* 形成分枝^[22]。杂交测试法也是用来鉴定石莼属海藻种类的另一种有效方法, 它通过一定技术手段获得已知海藻与未知海藻释放的配子, 进一步进行不同性别间配子的杂交实验, 根据是否存在生殖隔离即能否杂交来判断种类。该方法已在 *U. ohnoi*、*U. pertusa* 等石莼属藻类得到了应用^[6,19]。然而, 该方法从分离不同性别配子到进行杂交实验, 试验周期较长。目前对于藻类的鉴定已经越来越多的借助于分子生物学的方法。近年来, ITS 和 Rubisco 酶大亚基基因编码序列(*rbcL*)序列在绿潮藻类及石莼属藻种鉴定方面起了重要作用, 通过 ITS、*rbcL* 序列测定结合系统进化发育分析, 并综合形态学观察结果进行种类鉴定是目前国内外广泛采用的一种石莼属种类分析鉴定方法^[23-25]。但是该方法试验周期同样较长, 且其准确性受分析所用序列、分析方法等多种因素影响。

近年来, 由石莼属绿藻造成的绿潮在全球许多地区, 特别是中国, 呈现高发、频发态势, 给当地生态、旅游和农业生产带来了巨大损失。对石莼属绿藻的准确、快速鉴定和检测是预防和控制该类生态问题的首要前提。然而, 由于石莼属绿藻种类多样、

形态复杂、生活形式多样, 对其进行准确鉴定和检测具有较大难度^[26]。为了准确鉴定食品工业中不同绿藻的种类, Rouxel 等^[27]采用 SDS-PAGE 对 *U. rotundata*、*U. rigida*、*U. compressa* 和 *U. intestinalis* 进行了检测技术研究, 结果表明利用不同绿藻蛋白谱带的差异可以区分这四种绿藻。但是, 结果准确性受蛋白提取过程、样品数量和加工过程等多个因素影响, 因此 Rouxel 等推荐使用 PCR 方法来解决这一问题。PCR 检测反应通过一定技术手段分析特异性片段的有无, 能够准确的鉴定所需要鉴定物种的种类, 是目前广泛采用的一种技术手段, 已在多种有害藻检测中得到了应用^[28-29]。应用于石莼属种内扁浒苔鉴定, 国内外尚未见相关研究报道。

选择优化的 PCR 反应条件和体系是特异性引物进行有效扩增的前提, 本试验对温度、时间、循环数等反应条件和 Mg^{2+} 、Taq 酶、dNTP、引物等反应体系进行了单因素优化, 建立了优化的 PCR 反应条件和体系。在获得样品 DNA 条件下, 通过 PCR 反应和其产物凝胶电泳, 可以在 3-4 小时内对扁浒苔进行准确鉴定, 能够实现快速检测的目的。特异性试验结果表明通过该方法能够从供试 5 种石莼属绿藻中特异的检测出扁浒苔, 而其他供试样品均无特异性条带的出现。本研究所使用扁浒苔样品来源地有限, 虽然作者对浙江、福建等石莼属绿藻较为常见地区进行了样品采集, 但是并未获得扁浒苔样品, 这为进行不同地理来源的扁浒苔检测实验带来了困难。同时由于未得到更多的石莼属绿藻样品, 无法对更多的石莼属绿藻进行测试与验证。然而通过与 NCBI 数据库中搜索得到的序列进行比对和分析, 理论上该对引物具有较好的特异性。灵敏度实验表明最低能够检出 10 pg 的扁浒苔 DNA 模板, 只需要少量海藻样品即可检出。本试验建立的快速、特异、灵敏的检测鉴定扁浒苔的 PCR 反应体系和条件, 对于在绿潮爆发初期提供准确的鉴定结果, 相应的采取防控措施具有重要意义。同时, 本研究所建立的方法也可用于相关的生态学研究 and 食品等行业的相关研究。

参考文献:

- [1] Hayden H, Blomster J, Maggs C, et al. Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera[J]. European Journal of Phycology, 2003, 38(3): 277-294.
- [2] Hayden H S, Waaland J R. Phylogenetic systematics of

- the Ulvaceae. (Ulvales, Ulvophyceae) using chloroplast and nuclear DNA sequences[J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38(6): 1200-1212.
- [3] Flagella M M, Andreakis N, Hiraoka M, et al. Identification of cryptic *Ulva* species (Chlorophyta, Ulvales) transported by ballast water[J]. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 2010, 13: 47-51.
- [4] Guiry M D, Guiry G M. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>, 2010-12-09.
- [5] Tseng C K. *Common Seaweeds in China*[M]. Beijing: Science Press, 1983.
- [6] Hiraoka M, Shimada S, Uenosono M, et al. A new green-tide-forming alga, *Ulva ohnoi* Hiraoka et Shimada sp. nov. (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan[J]. *Phycological Research*, 2003, 51: 17-29.
- [7] Shimada S, Hiraoka M, Nabata, et al. Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvales, Ulvophyceae), with special reference to the free-floating *Ulva*[J]. *Phycological Research*, 2003, 51(2):99-108.
- [8] Largo D B, Sembrano J, Hiraoka M, et al. Taxonomic and ecological profile of “green tide” species of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) in central Philippines[J]. *Hydrobiologia*, 2004, 512(1): 247-253.
- [9] Charlier R H, Morand P, Finkl C W. How brittany and florida coasts cope with green tides[J]. *The International Journal of Environmental Studies*, 2008, 65(2): 191-208.
- [10] Blomster J, Back S, Fewer D P, et al. Novel morphology in *Enteromorpha* (Ulvophyceae) forming green tides[J]. *American Journal of Botany*, 2002, 89(11): 1756-1763.
- [11] Malta E J, Draisma S, Kamermans P. Free-floating *Ulva* in the southwest Netherlands: species or morphotypes? a morphological, molecular and ecological comparison[J]. *European Journal of Phycology*, 1999, 34(5): 443-454.
- [12] González del Val A, Platas G, Basilio A, et al. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain) [J]. *International Microbiology*, 2001, 4(1): 35-40.
- [13] Raman B V, Rao D N, Radhakrishnan T M. *Enteromorpha compressa* (L.) Greville An edible green alga as a source of anti-allergic principle (S) [J]. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(1): 105-109.
- [14] Mamatha B S, Namitha K K, Senthil A, et al. Studies on use of *Enteromorpha* in snack food[J]. *Food Chemistry*, 2007, 101(4): 1707-1713.
- [15] Ratkevicius N, Correa J A, Moenne A. Copper accumulation, synthesis of ascorbate and activation of ascorbate peroxidase in *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. (Chlorophyta) from heavy metal-enriched environments in northern Chile[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2003, 26(10):1599-1608.
- [16] Taylor R, Fletcher R L, Raven J A. Preliminary studies on the growth of selected “Green Tide” algae in laboratory culture: effects of irradiance, temperature, salinity and nutrients on growth rate[J]. *Botanica Marina*, 2001, 44(4): 327-336.
- [17] Yabe T, Ishii Y, Amano Y, et al. Green tide formed by free-floating *Ulva* spp. at Yatsu tidal flat, Japan[J]. *Limnology*, 2009, 10(3):239-245.
- [18] 国家海洋局. 2008年中国海洋灾害公报[R]. 北京: 海洋出版社, 2009.
- [19] Duan W J, Guo L X, Sun D, et al. Morphological and molecular characterization of free-floating and attached green macroalgae *Ulva* spp. in the Yellow Sea of China [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2011, DOI: 10.1007/S10811-011-9654-7.
- [20] Hiraoka M, Enomoto S. The induction of reproductive cell formation of *Ulva pertusa* Kjellman (Ulvales, Ulvophyceae) [J]. *Phycological Research*, 1998, 46(3): 199-203.
- [21] Coyer J, Robertson D, Alberte R. Genetic variability within a population and between diploid/haploid tissue of *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae) [J]. *Journal of Phycology*, 1994, 30(3): 545-552.
- [22] Blomster J, Maggs C A, Stanhope M J. Molecular and morphological analysis of *Enteromorpha intestinalis* and *E. compressa* (Chlorophyta) in the British Isles[J]. *Journal of Physiology*, 1998, 34(2): 319-340.

- [23] Coat G, Dion P, Noailles M C, et al. *Ulva armoricana* (Ulvales, Chlorophyta) from the coasts of Brittany (France). II. Nuclear rDNA ITS sequence analysis[J]. European Journal of Phycology, 1998, 33(1): 81-86.
- [24] Loughnane C J, McIvor L M, Rindi F, et al. Morphology, rbcL phylogeny and distribution of distromatic *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Ireland and southern Britain[J]. Phycologia, 2008, 47(4): 416-429.
- [25] Heesch S, Broom J E S, Neill K F, et al. *Ulva*, *Umbraulva* and *Gemina*: genetic survey of New Zealand taxa reveals diversity and introduced species[J]. European Journal of Phycology, 2009, 44(2):143-154.
- [26] 刘峰, 逢少军, 单体锋, 等. 一种新的海水中石莼属海藻显微阶段个体数定量方法及在黄海绿潮爆发过程中的应用[J]. 科学通报, 2010, 55(6): 468-473.
- [27] Rouxel C, Bonnabeze E, Daniel A E, et al. Identification by SDS PAGE of green seaweeds (*Ulva* and *Enteromorpha*) used in the food industry[J]. Journal of Applied Phycology, 2001, 13(3): 215-219.
- [28] Kai A K L, Cheung Y K, Yeung P K K, et al. Development of single-cell PCR methods for the *Raphidophyceae*[J]. Harmful Algae, 2006, 5(6): 649-657.
- [29] Bott N J, Ophel-Keller K M, Sierp M T, et al. Toward routine, DNA-based detection methods for marine pests[J]. Biotechnology Advances, 2010, 28(6): 706-714.

Rapid detection of *Ulva compressa* by PCR

DUAN Wei-jun¹, GUO Li-xin¹, CHEN Xian-feng¹, ZHU Shui-fang², ZHU Wen-rong³

(1. Ningbo Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau Technical Center, Zhejiang Province, Ningbo 315012, China; 2. Institute of Animal and Plant Quarantine, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100121, China; 3. Xiangshan Xuwen development of Seaweed CO.,ltd, Zhejiang Province, Ningbo 315040, China)

Received: Apr., 23, 2011

Key words: *Ulva compressa*; PCR; detection

Abstract: *Ulva compressa* is one of causal agent for green tide. Rapid detection of *U. compressa* is important to prevent and control green tide. In this study, a pair of primers was designed for PCR diction of *U. compressa* according to the differential region of ITS rDNA of *Ulva* sp . The protocols for PCR amplification was optimized. The PCR detection can differentiate *U. compressa* from other *Ulva* algae, including *U. linza*, *U. prolifera*, *U. flexuosae*, and *U. pertusa*. The detection sensitivity was 10 pg of algae genome DNA per PCR reaction. The specific PCR can be applied to rapid detection of *U. compressa*.

(本文编辑: 梁德海)