

山东部分海域红藻的鉴定与多样性分析

梁成伟¹, 王娟娟¹, 张晓文², 徐东², 叶乃好²

(1. 青岛科技大学 化工学院, 山东 青岛 266042; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 在山东青岛、威海和烟台近海海域的潮间带进行采样调查, 共采取 36 株红藻样本, 对其形态学特征进行了详细的观察。结果显示, 所采集的样本在色泽、大小、形态、叶状体形状等外观上均有一定差异, 但部分样本间差别并不明显。同时作者采用分子系统学的方法, 从藻类样本中分离了 *rbcL* 基因片段, 并进行了序列分析, 利用 *rbcL* 基因建立了分子系统进化树, 对样品间的亲缘关系及多样性进行了系统分析。结果表明, 本研究采得的红藻样本有很好的多样性, 分别与 GenBank 中已报道的红藻门中的 16 个属亲缘关系较近。在青岛、烟台和威海 3 个海域的红藻样本呈现不同的多样性, 并且同一属的样品表现出很好的属内种间多样性。

关键词: 山东海域; 红藻; *rbcL* 基因; 分子鉴定; 多样性

中图分类号: P745

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2013)02-0022-08

红藻属于红藻门植物, 约有 760 多个属、4400 多个种, 绝大多数属于海洋藻类。红藻是海洋经济藻, 许多品种在食品、工业、医药领域具有较大的开发价值。紫菜、麒麟菜、石花菜等营养丰富、味道鲜美是常见的食用种类^[1-3]; 石花菜、江蓠、麒麟菜等是琼胶和卡拉胶工业提取的原材料; 红藻中的藻红蛋白(Phycocerythrin, PE)在医药、食品和化工产品等方面具有巨大的潜在价值^[4-6]。

红藻种质资源的调查与鉴定可以为红藻的开发利用提供信息和依据, 因此红藻的分类鉴定一直是藻类学家研究的重要课题。传统的藻类分类学基于外部形态、内部构造和生理特征, 尤其是生殖器官的差异等形态特征的相似程度(即“物以类聚”)来进行红藻鉴定。由于亲缘关系相近的藻类在藻体形态、生理特征等指标上表现的差异很小, 很难清晰有效地根据形态特征区分不同物种。另外, 藻类具有简单的形态学和解剖学特征, 经多代遗传后, 表型的变异可塑性与环境因子相互作用, 增大了鉴定的难度。因此, 随着分子生物学技术的发展, 越来越多的海藻分类学家开始用分子手段来解决藻类的物种归属问题^[7]。

2003 年, “DNA 条形码之父”——Paul Hebert 提出了 DNA 条形码(DNA barcoding)的概念, 从此借助分子生物学工具尤其是 DNA 条码技术越来越多地在种类鉴定中得到应用。目前用于藻类鉴定的 DNA 条

形码并不统一, 较通用的包括线粒体基因组细胞色素 c 氧化酶亚基 (*cox*) 基因^[8]、叶绿体基因组 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶大亚基(*rbcL*)基因^[9]、核糖体 RNA 编码基因(Ribosomal RNA gene, rDNA)及转录间隔区(Internal Transcribed Spacer, ITS)等^[10]。其中 *rbcL* 基因序列进化速率比较适于研究高等级分类单元间的系统关系, 因而在植物分子系统学研究中应用较广泛^[11]。近年来, *rbcL* 在许多藻类多样性的研究利用也取得了较好的效果。2000 年, Wyman 等^[12]利用 *rbcL* 基因的编码产物 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(RubisCO)的表达程度作为浮游植物增殖的指标, 对赤潮的发生进行了早期预报。刘永健等^[13]利用 *rbcL* 基因作为分子标记, 初步分析了胶州湾表层海水浮游植物遗传多样性。2009 年, 杨立恩^[14]通过 *rbcL* 基因对产于中国的红毛菜科植物进行了系统分类学及生物地理学研究。李强等^[7]获取来自世界各大洲串珠藻目植物 43 种的 *rbcL* 基因序列, 结合其形态和生物地理特征, 构建了该目的系统发育关系。

本研究在山东青岛、威海和烟台近海海域的潮间带采集了 36 株红藻样本, 采用传统形态学和分子

收稿日期: 2012-05-18; 修回日期: 2012-08-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31000135); 青岛市科技计划项目(11-3-1-5-hy, 11-2-4-3-(5)-jch)

作者简介: 梁成伟(1979-), 女, 博士, 副教授, 主要从事藻类分子生物学研究, E-mail: liangchw117@126.com

生物学技术相结合的办法对其多样性进行了分析,初步揭示了调查海域的红藻资源多样性和系统发育关系。

1 材料和方法

1.1 样本的采集

2010年3~4月,在山东青岛、威海、烟台等城市的潮间带(均属黄海)进行红藻类的采集并制作标本。采集地点如图1所示。采集藻样共36株,采集地及编号如下:青岛(QD-001~QD-017),威海(WH-001~WH-009)烟台(YT-001~YT-010)。

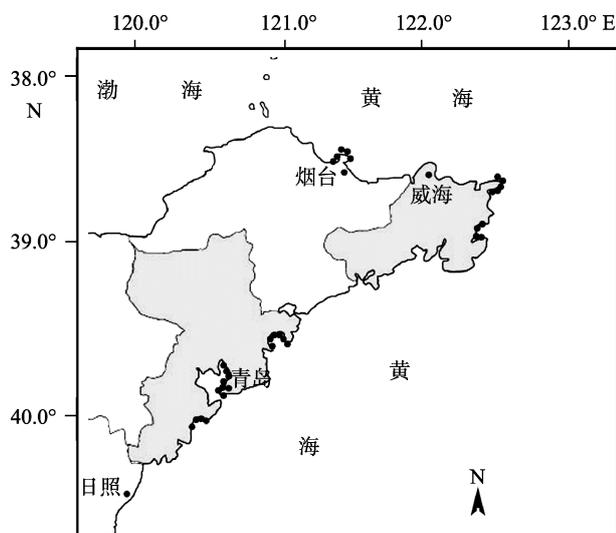


图1 样本采集地点

Fig. 1 Locations of sample collection sites

1.2 藻类样本基因组DNA的提取

将采集的藻类用无菌水清洗3遍,用吸水纸吸干,在液氮冷冻条件下将样本研磨成粉末状,使用天根植物全基因组提取试剂盒(DP320)提取全基因组DNA^[15]。

1.3 *rbcL* 片段的扩增

以提取的藻类基因组DNA为模板,用PCR方法扩增藻类样本中的叶绿体*rbcL*基因序列。根据*rbcL*基因编码的氨基酸序列高度保守性设计扩增引物分别为: T₁(5'-GCNAAAATGGGNWAYTGGGAYGC-3')和 T₂(5'-TTAAGNTAWGAACCYTAACTTC-3'),由上海博尚生物技术有限公司合成。

反应条件为: 95 预变性 4 min; 94 变性 45s, 50 退火 45 s, 72 延伸 2 min, 循环 4 次, 95 变性 30 s, 56 退火 30 s, 70 延伸 2 min, 循环 25 次;

72 继续延伸 10 min; 4 保存。PCR产物于1.0%琼脂糖凝胶上电泳,将目的条带切割后回收纯化,连接到pMD18-T载体上,转化感受态TOP10,筛选得到阳性克隆,并送往上海博尚生物技术有限公司测序。

1.4 数据分析

将获得的*rbcL*基因序列与NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)数据库中序列进行BLAST比对以验证扩增片段的正确性。片段的多序列比对是通过CLUSTAL X软件^[16]采用默认设置进行的。为了更好地分析这些藻类样本的多样性,作者从NCBI数据库中选取了19条来自不同属的*rbcL*基因序列,用于对比分析以及系统发育树的构建,以*Ulva californica*的*rbcL*基因序列作为外群。表1中列出所选用的序列。用MEGA 5.0提供的邻接法(NJ)、最大简约法(MP)及最大似然法(ML)分别构建系统发育树^[17]。系统发育树的可靠性是通过自展(bootstrap)方法重复抽样1000次进行的^[18]。

2 结果

2.1 红藻样本形态分析

本研究所采集的样本在色泽、大小、形态、叶片形状等外观上均有一定差异,但部分样本间差别并不明显(图2,图3和图4)。根据色泽、大小、叶片形状等形态外观上的相似度,将红藻样本大致分为以下几类,如表2。

2.2 *rbcL* 序列特征

利用PCR方法扩增出的36株红藻*rbcL*基因片段长度约为695bp,基于测得的基因序列在BLAST系统数据库中下载的20个*rbcL*基因序列,长度为1400bp左右。在Clustal X和BioEdit软件中比对并截取所有序列全有的最大长度进行分析。若样本间的*rbcL*序列相似度高于97%,则取出其一作为代表性序列,获得19个红藻样本的*rbcL*序列对比图,如图5。

采用BioEdit软件,将19株序列差别较大的代表性藻样进行相似度分析并作出相似度比对图(图6)。QD-001与WH-003红藻样本的*rbcL*序列均为694bp,其中有647bp为相同序列,相似度达93.2%,是19株代表性藻样中相似度最高的。而YT-004与QD-012的相似度最低,只有567bp为相同序列,从*rbcL*序列的相似度角度来看,这两株红藻的亲缘关系是比较远的。

表 1 选用序列的登录号及来源

Tab.1 Accession numbers and sources of selected *RbcL* sequences

序列登录号	序列来源	物种分类
AF388571.1	<i>Ahnfeltiopsis flabelliformis</i>	红藻门, 杉藻目, 叉枝藻科, 拟伊藻属
GU168534.1	<i>Grateloupia asiatica</i>	红藻门, 隐丝藻目, 海膜科, 蜈蚣藻属
DQ095814.1	<i>Gracilaria textorii</i>	红藻门, 杉藻目, 江蓐科, 江蓐属
AF321113.1	<i>Caulacanthus okamurae</i>	红藻门, 杉藻目, 茎刺藻科, 茎刺藻属
GU168535.1	<i>Grateloupia catenata</i>	红藻门, 隐丝藻目, 海膜科, 蜈蚣藻属
GQ338146.1	<i>Besa papillaeformis</i>	红藻门, 杉藻目, 叉枝藻科, <i>besa</i>
FN400862.1	<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	红藻门, 杉藻目, 江蓐科, 江蓐属
EU349215.1	<i>Dudresnaya verticillata</i>	红藻门, 杉藻目, 杜蠕藻科, 杜蠕藻属(柔毛藻属)
AF257383.1	<i>Membranoptera tenuis</i>	红藻门, 仙菜目, 红叶藻科, 膜翼藻属
AF254153.1	<i>Acrosorium polyneurum</i>	红藻门, 仙菜目, 红叶藻科, 顶群藻属
HM573544.1	<i>Polysiphonia</i> sp. 3 DWF-2011	红藻门, 仙菜目, 松节藻科, 多管藻属
DQ787586.1	<i>Gelidium amansii</i>	红藻门, 石花菜目, 石花菜科, 石花菜属
EU567345.1	<i>Gracilariopsis chorda</i>	红藻门, 杉藻目, 江蓐科, <i>Gracilariopsis</i>
HM573579.1	<i>Polysiphonia morrowii</i>	红藻门, 仙菜目, 松节藻科, 多管藻属
DQ458954.1	<i>Ceramium tenerrimum</i>	红藻门, 仙菜目, 仙菜科, 仙菜属
GQ252492.1	<i>Odonthalia floccosa</i>	红藻门, 仙菜目, 松节藻科, 齿海藻属
EU349111.1	<i>Jania natalensis</i>	红藻门, 珊瑚藻目, 珊瑚藻科, 叉珊瑚藻属
PCU21700	<i>Plocamium coleorhiza</i>	红藻门, 杉藻目, 海头红科, 海头红属
AB383122.1	<i>Lomentaria hakodatensis</i>	红藻门, 红皮藻目, 环节藻科, 节荚藻属
AY422515.1	<i>Ulva californica</i>	绿藻门, 丝藻目, 石莼科, 石莼属

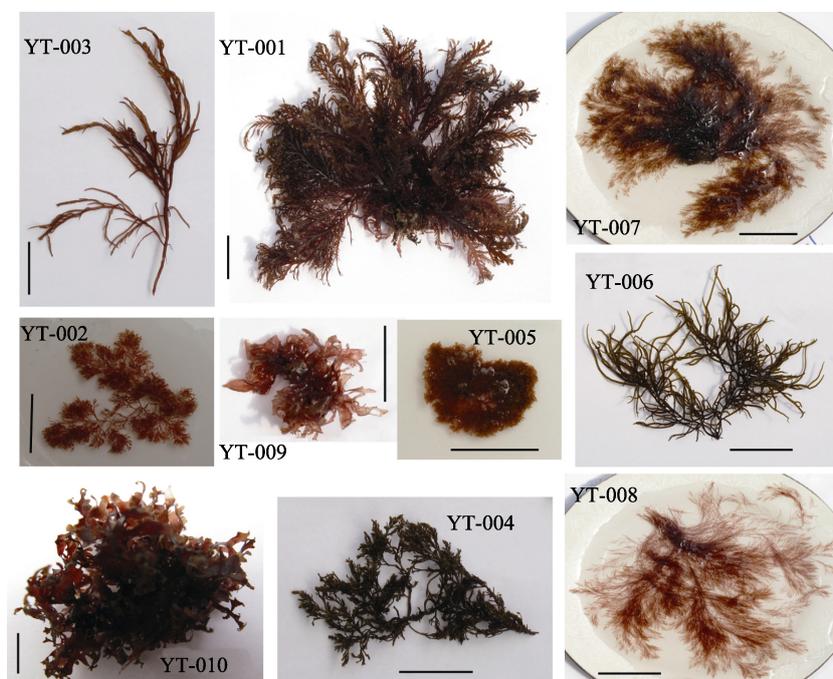


图 2 烟台海域红藻样本的形态图片(标尺大小为 0.5 cm)

Fig. 2 The morphological pictures of red algae samples from Yantai sea area (Bar is 0.5 cm)

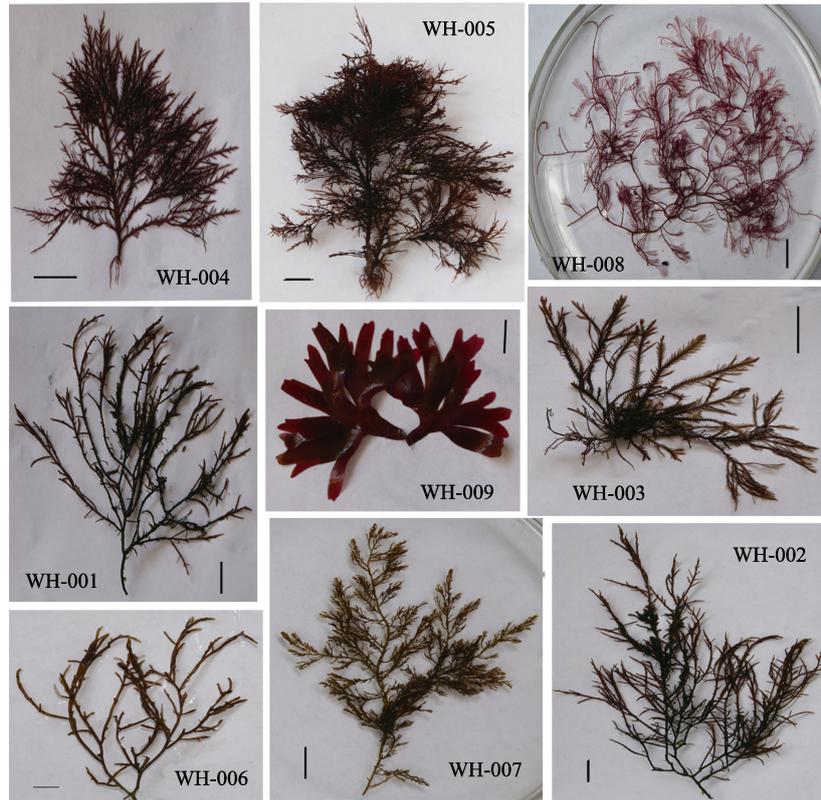


图 3 威海海域红藻样本的形态图片(标尺大小为 0.5 cm)

Fig. 3 The morphological pictures of red algae samples from Weihai area (Bar is 0.5 cm)

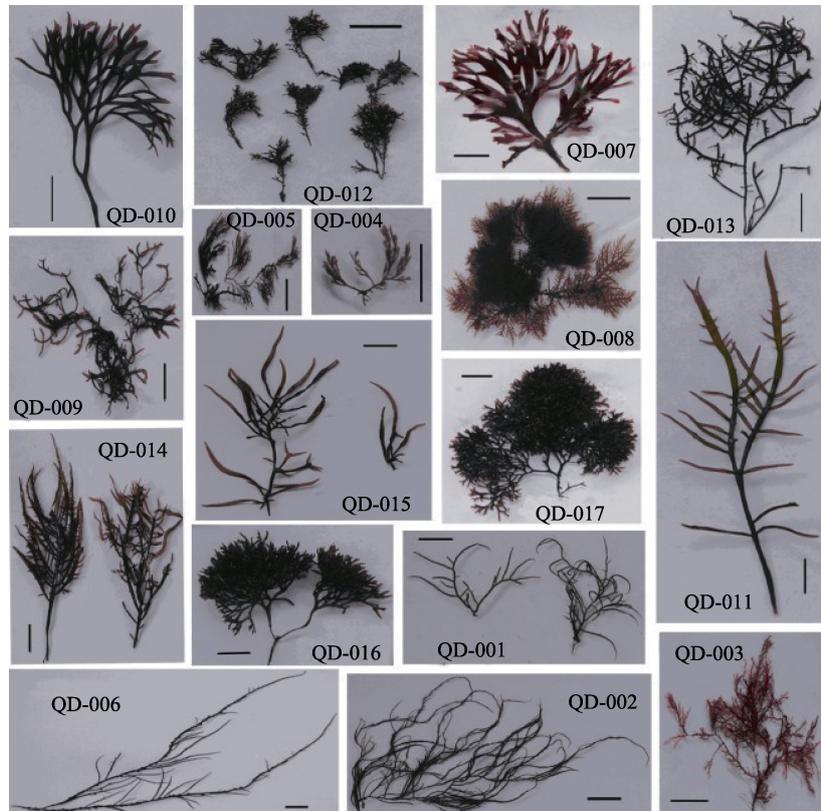


图 4 青岛海域红藻样本的形态图片(标尺大小为 0.5 cm)

Fig. 4 The morphological pictures of red algae samples from Qingdao area (Bar is 0.5 cm)

表 2 红藻样本形态特征

Tab. 2 The morphological characteristics of red algae samples

藻株形态特征	代表性藻株样本
颜色呈红褐色, 松树状, 主枝明显, 分枝较多	QD-010、QD-016、QD-017、WH-004、WH-005
颜色鲜亮, 大叶片状裂成许多小叶片	QD-007、WH-009
树枝状, 枝杈末端带有小触角	QD-001、QD-006、QD-011、QD-015、WH-006、YT-003
藻株有固着体, 黏附在固定物上萌发, 形成具有假薄壁组织的丝状体或枝状体	QD-002、QD-008、WH-003、YT-001、YT-001、YT-002、YT-005、YT-007、YT-008
藻株成簇成长, 独立形成完整小个体	YT-009、YT-010
颜色较暗, 呈棕褐色, 形态似干枯树枝	QD-012、QD-013、YT-004

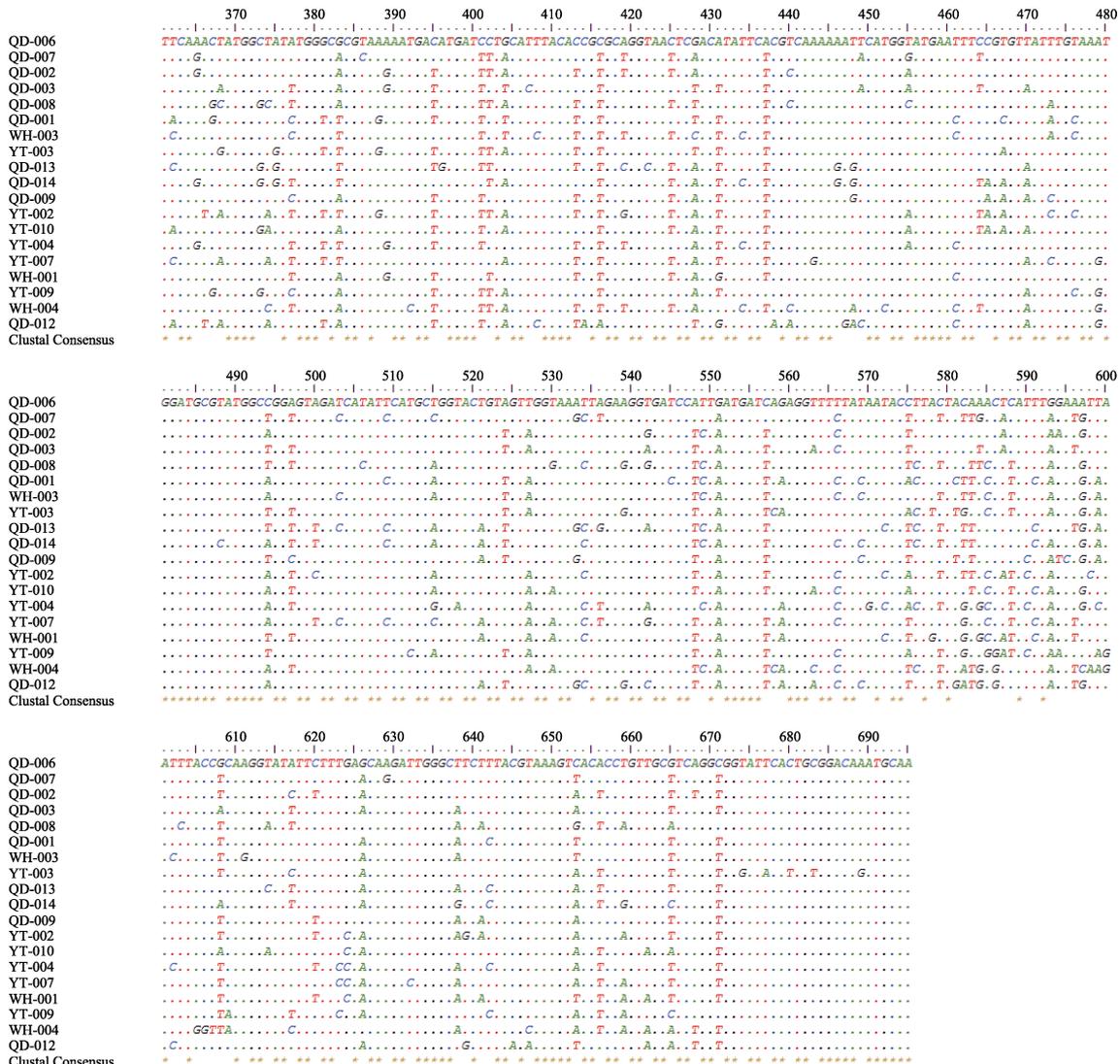


图 5 不同藻类样本 *rbcL* 序列比对结果

Fig. 5 The alignment of sequences of *rbcL* from different red algae

“.”表示与最上面一行的核酸一致;“-”表示产生的比对空隙
 “. ” this sign indicates a nucleotide identical with that on the top row, and “-” represents a gap

2.3 藻株的分子鉴定与系统发育分析

为鉴定藻株种类及进化关系, 本研究将 36 株藻类样本序列与 NCBI 数据库中下载的 20 条代表性序列一起构建系统进化树。采用软件 Mega5.0 中的邻

接法(NJ)、最大简约法(MP)及最大似然法(ML)构建了藻株 *rbcL* 基因序列的系统发育树。对比可见, 用 3 种方法构建的系统发育树具有类似的拓扑结构, 本文中只选取 NJ 法构建的系统进化树, 如图 7。

Sep->	QD-006	QD-007	QD-002	QD-003	QD-005	QD-001	WH-003	YT-003	QD-013	QD-014	QD-009	YT-002	YT-010	YT-004	YT-007	WH-001	YT-009	WH-004	QD-012
DQ-006	1.000	0.906	0.894	0.860	0.860	0.848	0.854	0.844	0.860	0.853	0.851	0.844	0.857	0.833	0.835	0.856	0.854	0.825	0.838
DQ-007	---	1.000	0.903	0.870	0.860	0.846	0.863	0.846	0.874	0.873	0.854	0.850	0.860	0.838	0.841	0.858	0.856	0.838	0.840
DQ-002	---	---	1.000	0.869	0.860	0.861	0.861	0.867	0.857	0.857	0.866	0.850	0.860	0.857	0.840	0.858	0.858	0.834	0.831
DQ-003	---	---	---	1.000	0.867	0.848	0.856	0.857	0.851	0.858	0.854	0.847	0.861	0.838	0.838	0.851	0.854	0.830	0.837
DQ-005	---	---	---	---	1.000	0.846	0.848	0.861	0.853	0.844	0.850	0.847	0.844	0.825	0.828	0.846	0.838	0.841	0.830
DQ-001	---	---	---	---	---	1.000	0.932	0.876	0.864	0.856	0.853	0.864	0.863	0.847	0.844	0.843	0.850	0.815	0.840
WH-003	---	---	---	---	---	---	1.000	0.876	0.871	0.870	0.861	0.864	0.864	0.851	0.847	0.851	0.863	0.842	0.834
YT-003	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.874	0.876	0.864	0.867	0.868	0.864	0.864	0.871	0.870	0.829	0.821
DQ-013	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.923	0.873	0.858	0.861	0.854	0.865	0.860	0.861	0.832	0.834
DQ-014	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.870	0.854	0.874	0.854	0.864	0.851	0.877	0.841	0.825
DQ-009	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.867	0.867	0.857	0.853	0.861	0.861	0.847	0.848
YT-002	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.883	0.868	0.867	0.865	0.853	0.827	0.828
YT-010	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.870	0.881	0.878	0.871	0.857	0.845
YT-004	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.878	0.868	0.850	0.828	0.817
YT-007	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.889	0.860	0.831	0.824
WH-001	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.874	0.857	0.832
YT-009	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.861	0.827
WH-004	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	0.835
DQ-012	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000

图 6 19 株代表性红藻样本的 *rbcL* 序列相似性分析

Fig. 6 The analysis of sequence similarity of *rbcL* genes from 19 red algal samples

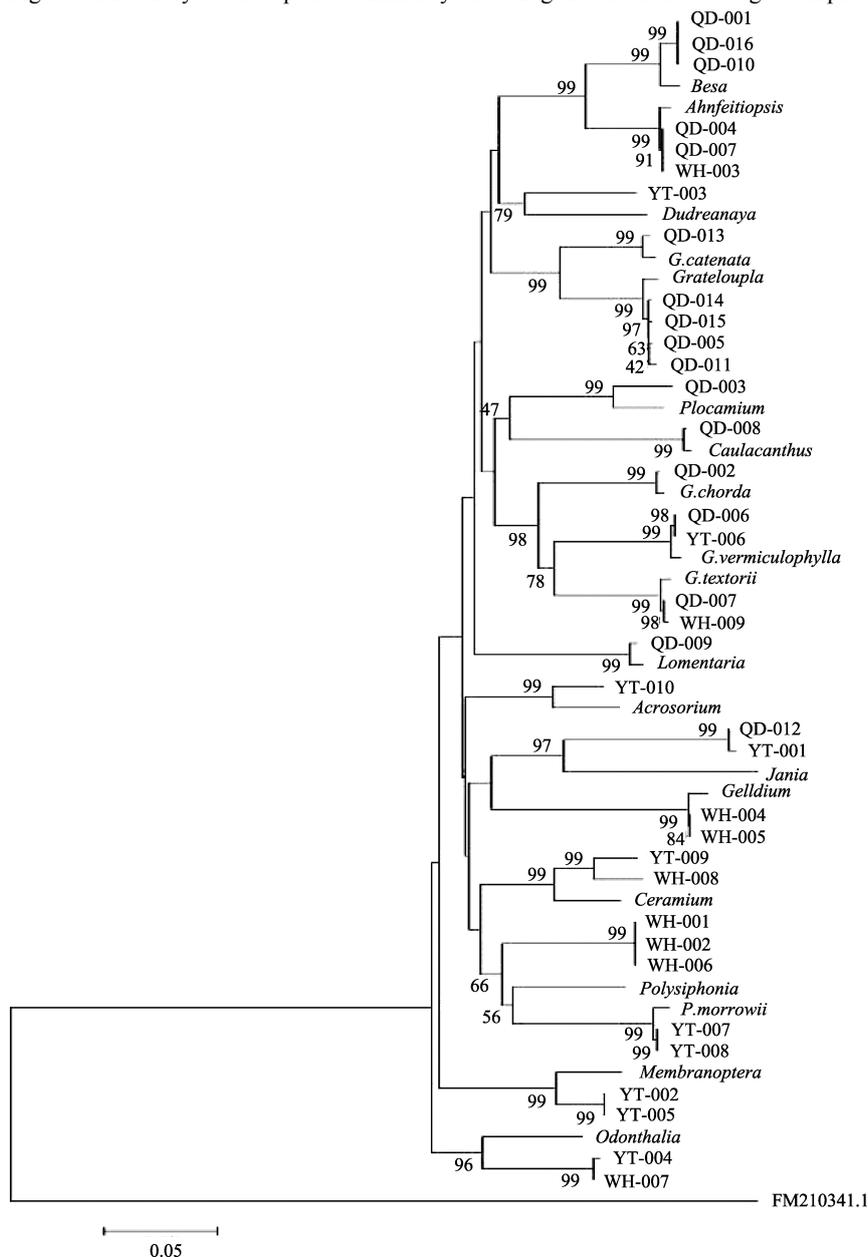


图 7 基于 *rbcL* 基因序列构建的 NJ 树

Fig. 7 Phylogenetic trees inferred from *rbcL* genes using neighbor-joining method
分支上的数字表示 1000 次重复抽样所获得的自检验支持值
numbers at the nodes indicate bootstrap values

通过系统发育分析可以看出采集到的山东红藻样本有很好的物种多样性, 36 株藻样分别归属于 16 个属。其中青岛海域红藻包括 9 个属, 分别是拟伊藻属(*Ahnfeltiopsis*)、*Besa* 属、节荚藻属(*Lomentaria*)、蜈蚣藻属(*Grateloupia*)、叉珊藻属(*Jania*)、*Gracilariopsis* 属、江蓠属(*Gracilaria*)、茎刺藻属(*Caulacanthus*)和海头红属(*Plocamium*); 烟台海域的红藻样本包括 8 个属, 分别为柔毛藻属(*Dudresnaya*)、顶群藻属(*Acrosorium*)、齿海藻属(*Odonthalia*)、膜翼藻属(*Membranoptera*)、仙菜属(*Ceramium*)、叉珊藻属(*Jania*)、江蓠属(*Gracilaria*)和多管藻属(*Polysiphonia*); 威海红藻样本有 6 个属, 拟伊藻属(*Ahnfeltiopsis*)、齿海藻属(*Odonthalia*)、多管藻属(*Polysiphonia*)、江蓠属(*Gracilaria*)、仙菜属(*Ceramium*)和石花菜属(*Gelidium*)。

从藻类样本地理分布的角度分析, 有些属的藻比较常见, 如江蓠属(*Gracilaria*)在青岛、烟台、威海海域均有发现; 有些藻只分布于某两个海域, 如拟伊藻属(*Ahnfeltiopsis*)存在于青岛和威海, 齿海藻属(*Odonthalia*)在烟台和威海均有分布等; 有些藻类样本仅在某一海域采得, 如青岛的 *Gracilariopsis*、茎刺藻属(*Caulacanthus*)、海头红属(*Plocamium*)、节荚藻属(*Lomentaria*)、*Grateloupia* 和 *Besa* 属, 烟台的膜翼藻属(*Membranoptera*)、柔毛藻属(*Dudresnaya*)和顶群藻属(*Acrosorium*)、威海的石花菜属(*Gelidium*)等。虽然某些藻在本次研究中只出现在部分海域, 但是并不能说明该藻在某海域中不存在, 可能不是该海域的优势种群, 或者本研究的采样性不足, 在今后的研究中会进一步补充数据。

3 讨论

3.1 藻类形态特征与分子鉴定结果的比较

部分藻样形态特征明显, 用传统形态学方法就能够快速鉴定, 如 WH-009 和 QD-007 均属于江蓠属(*Gracilaria*), YT-007 和 YT-008 均属于多管藻属(*Polysiphonia*)等。这些结果, 通过系统发育分析也得到同样的结论, 这也验证了分子生物学方法的可靠性。但有些取自不同采集点的样本形态上比较相近, 用传统形态学方法很难得到确切的结论。如 QD-011 与 QD-015 总体形态相近, 但前者分枝圆润, 各分枝上的小叶片较集中, 且形态均细长圆滑, 而后者分枝并明显, 且叶片呈长条扁平状。从分子生物学角度, 两者 *rbcL* 基因序列在系统发育树中, 聚为一类, 在

系统发育树中与 *Grateloupia catenata* 有 99% 的支持度, 均属于蜈蚣藻属。OD-002 与 QD-006 和 YT-006 形态上比较接近, 但是在系统发育树中, OD-002 并不与 OD-006 和 YT-006 聚在一个分支上。OD-002 与 *Gracilariopsis chorda* 有 99% 的支持度, 而 QD-006 与 YT-006 与 *Gracilaria vermiculophylla* 有 99% 的支持度。这也表明同传统的形态学鉴定方法相比, 分子生物学技术具有其特定的优势。

3.2 红藻物种的多样性

有的红藻属分布较广, 存在很好的属内种间多样性, 如江蓠属(*Gracilaria*)在青岛、烟台、威海均有分布, 在系统发育树中形成一个大的分枝, 其又分成三个小的分枝, QD-007 和 WH-009 与 *Gracilaria textorii* 有 99% 的支持度, QD-006 与 YT-006 与 *Gracilaria vermiculophylla* 有 99% 的支持度, OD-002 与 *Gracilariopsis chorda* 有 99% 的支持度。此外, 本研究的一些藻样, 在数据库中通过 BLAST 并没有搜索到相似度较高的序列, 这在系统发育树中也有所体现, QD-011 和 QD-014 在系统发育树中虽都与 *Grateloupia asiatica* 聚成一簇, 但支持度也偏低。这可能是属内种间多样性的表现, 也可能是数据库中暂时没有收录的较新的种或亚种, 这也说明红藻的分子生物学鉴定研究相对还较少, 需要在进一步发展中不断完善相关数据。目前, 使用 *rbcL* 基因作为藻类鉴定依据并不十分完善。一方面, 由于分子生物学鉴定方法起步较晚, 数据库中的已知序列不全。如本研究中的样本 QD-014 等在数据库中并没有下载到相似度很高的物种序列。另一方面, 在研究物种属间多样性时, *rbcL* 基因片段, 是很好的应用工具, 但要具体到属内种间、甚至种内的多样性时, 仅凭一分子标记难以完全确定, 如果能结合 *COX1*, *rDNA* 等其他的 DNA 条形码工具效果会更好。综上, 分子生物学提供的信息较为客观, 研究方法较容易掌握。但分子生物学的快速发展是以传统分类学为基础的继承和发展, 并非摒除传统的分类方法。在研究过程中, 两种方法结合使用, 才能达到方便快捷鉴定生物多样性的目的。

参考文献:

- [1] 郭雷, 王淑军, 郝倩, 等. 条斑紫菜多糖和藻红蛋白生物活性的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(6): 182-185.
- [2] 李来好, 戚勃, 杨少玲. 麒麟菜膳食纤维的降血脂功

- 能[J]. 中国水产科学, 2008, 15: 943-949.
- [3] 李媛媛. 海藻的营养魅力[J]. 中国保健食品, 2011, 5:37.
- [4] 季宇彬, 徐博慧, 高世勇. 藻胆蛋白主要生物活性研究进展[J]. 中国药理通讯, 2009, 26(2): 23-24.
- [5] 陈小强, 史锋, 龚兴国. R - 藻红蛋白的结构、功能及其应用[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(4): 399-403.
- [6] Yuji H, Yukari O, Koki H. Hyperproduction and application of alpha- agarase to enzymatic enhancement of antioxidant activity of porphyran[J]. Agric Food Chem, 2006, 54: 9895-9900.
- [7] 李强, 吉莉, 谢树莲. 串珠藻目植物的系统发育-基于 *rbcL* 序列的证据[J]. 水生生物学报, 2010, 1: 20-28.
- [8] Ehara M, Inagaki Y, Watanabe K I, et al. Phylogenetic analysis of diatom *coxI* genes and implications of a fluctuating GC content on mitochondrial genetic code evolution [J]. Curr Genet, 2000, 37(1): 29-33.
- [9] Harper J T, Saunders G W. The application of sequences of the ribosomal cistron to the systematics and classification of the florideophyte red algae (Florideophyceae Rhodophyta) [J]. Cah Biol Mar, 2001, 42: 25-38.
- [10] Ross P J, Donaldson S L, Saunders G W. A molecular investigation of *Mazzaella* (Gigartinales Rhodophyta) morphologically intermediate between *Mazzaella linearis* and *M. splendens*[J]. Bot Mar, 2003, 46: 202-213.
- [11] 桂君, 谭晓风. 植物分子分类与鉴定综述 [J]. 生命科学研究, 1998, 2(4): 253-257.
- [12] Wyman M, Davies J T, Crawford D W, et al. Molecular and physiological responses of two classes of marine chromophytic phytoplankton (Diatoms and prymnesiophytes) during the development of nutrient stimulated blooms[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(6): 2349-2357.
- [13] 刘永健, 杨官品, 管晓菁. 胶州湾浮游植物 *rbcL* 基因分子遗传多样性研究[J]. 应用生态学报, 2004, 15(9): 1626-1632.
- [14] 杨立恩. 中国红毛菜科植物 *rbcL* 基因序列的系统学研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2009.
- [15] 梁成伟, 张晓雯, 宿烽. 绿潮爆发后青岛海域石莼属绿藻的多样性分析[J]. 海洋通报, 2010, 29(5): 540-545.
- [16] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25: 4876-4882.
- [17] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28: 2731-2739.
- [18] Felsenstein J. Phylogeny inference package(version 3.2)[J]. Cladistics, 1989, 5: 164-166.

The identification and diversity analysis of red alga in partial Shandong waters

LIANG Cheng-wei¹, WANG Juan-juan¹, ZHANG Xiao-wen², XU Dong², YE Nai-hao²

(1. Chemical Engineering College, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: May, 18, 2012

Key words: Shandong Waters; Red Alga; *RbcL* gene; Molecular Identification; Diversity

Abstract: There is a wide variety of red alga, which have great economic values and development prospects. In this study, we analyzed 36 algal samples collected at the intertidal areas in Qingdao, Weihai and Yantai, Shandong province, using morphological methods and molecular techniques. The results of morphological observation revealed that the red algal samples displayed the difference in color, size, shape of thallus and other morphological characterization. At the same time, using the method of molecular systematics, *rbcL* genes were isolated from the samples and used to reconstruction the evolutionary tree to analyze the genetic relationship and diversity among the samples. The results revealed the collected samples have a closer relationship with 16 genera reported in the GenBank. The samples collected from Qingdao, Weihai and Yantai presented the difference in the diversity. The results also showed a good diversity between species within genera.

(本文编辑: 梁德海)