单条胶黏藻 *Dumontia simplex* Cotton 的 生长状态研究与分子分析*

王永宇 王昊林 李佳俊 王宏伟

(辽宁师范大学 生命科学学院 大连 116081)

摘要 对分布在黄、渤海沿岸的单条胶黏藻 Dumontia simplex Cotton 的形态结构、生物量、成熟个体比例与成熟个体生物量/总生物量(R/T 指数)的变化、温度性质以及 rbcL、COI 基因序列进行了详细研究。结果表明: (1) 10 个采集地点的单条胶黏藻藻体直立、扁平或螺旋状, 质地胶质黏滑, 颜色为红色或紫红色。在大连黑石礁与付家庄采集到的藻体长度和宽度明显高于其他采集地点; (2) 藻体由皮层与髓部组成, 皮层由 4—8 层细胞组成, 髓部有疏松的根丝细胞。囊果散生, 包埋于皮层内, 刚发育的囊果较小, 色淡, 随着藻体生长囊果变大, 颜色加深。四分孢子囊侧生在内皮层上, 成熟的四分孢子囊呈十字形分裂; (3) 4 月生物量最大, 平均生物量为 4.384g/m²。12 月至次年 6 月成熟个体比例逐渐增大, 6 月达到 100%,且均为四分孢子体; (4) 单条胶黏藻生长周期为 12 月至次年 6 月,属于一年生海藻,温度性质属于亚寒带性; (5) rbcL与 COI 基因序列分析表明, 十个采集地点的样本间无碱基差异,与产自美国单条胶黏藻聚在一起,形成一个独立的分支,均确定为单条胶黏藻。

关键词 单条胶黏藻; 形态结构; 生物量; 温度性质; 分子分析中图分类号 Q949.29 doi: 10.11693/hyhz20171200307

单条胶黏藻 Dumontia simplex Cotton 隶属于红藻门 Rhodophyta,杉藻目 Gigartinales,胶黏藻科 Dumontiaceae,胶黏藻属 Dumontia Lamouroux,广泛分布于辽宁大连、长海县,山东青岛、烟台与威海等地,生长在潮间带石沼中或岩石上(夏邦美, 2004)。对于单条胶黏藻的研究源于 20 世纪 60 年代,Tokida等(1964)对其外部形态和生殖结构进行了研究,发现单条胶黏藻的四分孢子体在形态上大于配子体。夏邦美(2004)与曾呈奎(2008)对其外部形态、营养结构与生殖结构进行了研究。Su等(2004)对单条胶黏藻的营养成分进行了研究,发现其富含较多的蛋白质和多糖,具有较高的营养价值,可用于食品加工与药物研发。Saunders(2005)对产自美国的单条胶黏藻细胞色素 c氧化酶亚基 I (COI)基因序列进行了分析,Saunders等(2011)又对其核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/氧化酶大亚基

(rbcL)基因和核糖体大亚基(LSUrRNA)基因序列进行了分析。姜朋等(2016)对单条胶黏藻孢子早期发育及其生活史进行了研究,发现单条胶黏藻果孢子发育的最适条件为温度 9°C、光强 160μmol/(m²·s)和盐度 30, 四分孢子发育的最适条件为温度 9—12°C、光强 160—200μmol/(m²·s)和盐度 30, 生活史为典型的同型世代交替。

近年来,黄、渤海沿岸海洋资源的过度开发,陆源污染严重,围填海的出现使得近岸污染整体上严重,潮间带生态系统退化与海水富营养化形势不断加剧,潮间带海洋生物赖以生存的环境不断恶化,环境的剧烈变化导致如浒苔 Enteromorpha prolifera (罗民波等, 2015)、孔石莼 Ulva pertusa (王健, 2010)、强壮硬毛藻 Chaetomorpha valida (邓蕴彦等, 2011)等一些藻类大规模暴发,引发的绿潮灾害迅速扩散,造成

一系列严重的海洋环境问题、且强壮硬毛藻 Chaetomorpha valida 在海参养殖池中大量繁殖、生长 盛期可将海参缠绕致死、严重影响海参养殖业的发 展、带来了巨大危害和经济损失(迟永雪等, 2009)。与 此同时, 笔者在标本的采集调查时发现一些常见海 藻由于栖息地的减少、遭到破坏等因素的影响迅速减 少, 甚至消失, 如海萝 Gloiopeltis furcata、亮管藻 Hyalosiphonia caespitosa 、 黏 管 藻 Gloiosiphonia capillaris、叉开网翼藻 Dictyopteris divaricate、幅叶 藻 Petalonia fascia 等。因此有必要对黄、渤海沿岸海 藻的种类、分布及生物量等进行详细调查与评估。单 条胶黏藻作为大型经济海藻, 在黄、渤海沿岸广泛分 布、生物量较大,除了具有食用、药用价值外,我们 也推测其在生长过程中能大量吸收碳、氮、磷等营养 物质和重金属,能缓解海水富营养化及在海洋生态 修复过程中具有重要作用。但关于其在黄、渤海沿岸 的详细分布、生长状态与分子分析方面的研究未见报 道。本研究将对单条胶黏藻的详细分布、形态结构、 生物量、成熟个体比例与成熟个体生物量/总生物量 (R/T 指数)的变化、温度性质等进行详细研究、并通过 rbcL、COI 基因序列分析结合形态结构对其进行准确 的鉴定。研究结果将明确单条胶黏藻在黄、渤海沿岸 的详细分布、资源现状;确定其生长周期与繁殖盛期, 为其自身物种的保护和繁育提供理论依据;确定单 条胶黏藻在海洋生态系统修复过程中的作用和地位, 为海洋生态系统的修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 采集地点的布设

本研究样本采自黄、渤海沿岸礁石较多且生态环境保护较好的海域。共布设了 10 个采集地点,分别位于山东省的青岛、威海与烟台,河北省的山海关,辽宁省的兴城、大连。

采集地点的布设如图 1 中 1—10 所示,分别位于山东省青岛市鲁迅公园(120°21′04.3"E, 36°03′02.9"N)、荣成市楮岛(122°34′11.1"E, 37°02′23.9"N)、烟台市养马岛(121°37′38.0"E, 37°28′26.5"N)、河北省山海关老龙头(119°47′55.61"E, 39°58′36.98"N)、辽宁省兴城市菊花岛(120°47′54.83"E, 40°29′39.02"N)、大连市旅顺黄金山(121°16′2.81"E, 38°47′38.96"N)、大连市黑石礁(121°33′0.68"E, 38°52′17.49"N)、大连市台家庄(121°38′12.04"E, 38°52′10.32"N)、大连市长海县獐子岛(122°44′11.10"E, 39°04′26.37"N)。

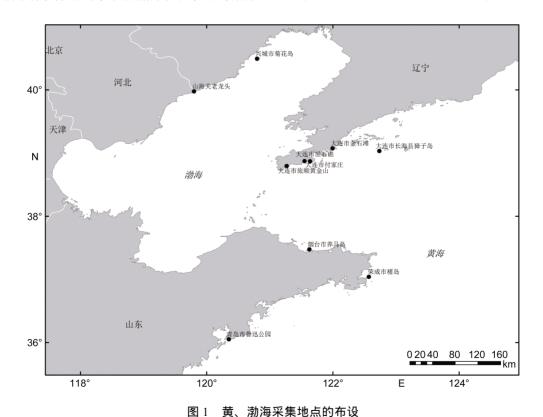


Fig.1 The sample collection sites in the Bohai Sea and the Yellow Sea

1.2 样本的采集与处理

根据海洋生物调查规范(中国国家标准化管理委员会, 2007), 2015 年 12 月至 2017 年 6 月每个月大潮期间进行样本采集,包括定性采集与定量采集。

定性采集: 单条胶黏藻生长在潮间带的岩石或石沼中(图 2a), 选择结构完整并且带有生殖器官的藻体进行采集, 采集完成后将藻体在解剖镜下去除藻体表面泥沙及附生藻类, 清理干净后部分新鲜藻体用于制作冰冻切片, 使用光学显微镜(Olympus BH2)观察藻体的形态结构, 用 Nikon HFX- A 照相机拍摄照片记录结果。另一部分制作成硅胶干燥标本, 用

于 rbcL、COI 基因序列分析,结构保存完整的藻体制作成腊叶标本并编号,并保存于辽宁师范大学生命科学学院植物标本馆(LNU)。

定量采集: 在每个采集地点藻体生长旺盛的区域布设 2 个 25cm×25cm 的样方(图 2b),将样方内的单条胶黏藻带回实验室,用吸水纸吸干藻体表面水分,并放置在 65°C 的烘干箱中干燥 24 小时,待藻体完全干燥后称重,记录每个样方内单条胶黏藻的生物量。统计每个样方内成熟个体数目及雌雄配子体和四分孢子体的数目,并计算成熟个体比例与 R/T 指数(Hasegawa et al, 1955), R/T 指数为成熟个体生物量/总生物量。





图 2 单条胶黏藻的野外生境与样方设置

Fig. 2 The wild habitat and setting of the quadrat (25×25cm) for *D. simplex* sampling 注: a: 单条胶黏藻的野外生境(箭头所指); b: 样方设置(25×25cm)

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

使用北京天根公司生产的植物基因组 DNA 提取 试剂盒提取藻体 DNA, 将提取到的 DNA 进行 PCR 扩增。引物设计参照姜朋的方法(姜朋, 2016)、引物组 合如表 1 所示,均由上海生工生物公司合成。*rbc*L 与 COI 基因的 PCR 反应程序参照姜朋的方法(姜朋, 2016),检测后的样品均由上海生工生物公司纯化和 测序。

表 1 rbcL 与 COI 基因序列扩增所需引物

Tab.1 Primers used for amplifying *rbc*L sequences and COI sequences

基因类型	引物	序列
rbcL	F57	5'— ATGCTAAAATGGGTTACTGGGA —3'
	R958	5'— CCAATAGTACCACCACAAAT —3'
	F747	5'— CACGGTATGAATTTCCGTGTAATT —3'
	R1381	5'— ATCTTTCCATAGATCTAAAGC —3'
COI	GazF1	5'— TCAACAAATCATAAAGATATTGG —3'
	DumR1	5′— AAAAAYCARAATAAATGTTGA —3′

1.4 rbcL、COI 基因序列分析

从每个采集地点中选取 3 个单条胶黏藻样本分别获得 30 条 rbcL 序列与 30 条 COI 序列。从 GenBank 获取了 3 个种的 rbcL、COI 序列(表 2),包括产自美国的单条胶黏藻、产自加拿大的胶黏藻属的 Dumontia contorta,作为外群种的蜈蚣藻属 Grateloupia 的带形蜈蚣藻 Grateloupia turuturu。应用软件 Clustalx(1.83)

进行序列比对。使用最大似然法 Maximum likelihood (ML)法、临近法 Neighbor joining (NJ)法和最大简约法 Maximum parsimony (MP)法构建系统发育树,使用 MEGA6.0 软件用于进行碱基差异度的分析以及构建 系统树,计算遗传距离模型为 Number of differences和 Kimura 2-Parameter, Bootstrap 重复 1000次(李芳, 2016)。

表 2 rbcL、COI 基因序列分析所用物种、采集地点及基因库登录号列表

Tab.2 List of species for rbcL and COI gene sequence analysis with the sample location and the accession numbers of GenBank

物种	采集地点	<u></u>			
12/1ፕ	木朱地 点	rbcL	COI		
Dumontia simplex Cotton	青岛鲁迅公园(LNU2016122925)	MG195956	MG200060		
D. simplex Cotton	荣成楮岛(LNU2017012708)	MG195957	MG200061		
D. simplex Cotton	烟台养马岛(LNU2017021102)	MG195958	MG200062		
D. simplex Cotton	山海关老龙头(LNU2017032711)	MG195959	MG200063		
D. simplex Cotton	兴城菊花岛(LNU2017032113)	MG195960	MG200064		
D. simplex Cotton	大连黄金山(LNU2017042601)	MG195961	MG200065		
D. simplex Cotton	大连黑石礁(LNU2017042602)	MG195962	MG20006		
D. simplex Cotton	大连付家庄(LNU2017052603)	MG195963	MG20006		
D. simplex Cotton	大连金石滩(LNU2017052609)	MG195964	MG20006		
D. simplex Cotton	大连獐子岛(LNU2017060925)	MG195965	MG200069		
D. simplex Cotton	美国	JN403063	AY971153		
D. contorta	加拿大	JN403062	AY971160		
Grateloupia turuturu	美国,韩国	AY100004	KJ648543		

2 结果

2.1 单条胶黏藻个体形态的变化

10 个采集地点的单条胶黏藻藻体均直立、扁平或螺旋状,质地胶质黏滑,颜色均为红色或紫红色,但不同采集地点的藻体的长度和宽度存在差异,采自大连黑石礁与付家庄的藻体在长度和宽度上明显高于其他8个采集地点(表3)。

表 3 不同采集地点的单条胶黏藻四分孢子体外部形态的 比较

Tab.3 The external morphology of *D. simplex* of different collection

采集地点	藻体颜色	平均长度(cm)	平均宽度(cm)
青岛鲁迅公园	紫红色	4—12	0.4—1.3
荣成楮岛	红色	3—13	0.3—1.6
烟台养马岛	红色	5—14	0.6—1.7
山海关老龙头	紫红色	6—17	0.7—1.6
兴城菊花岛	红色	4—15	0.5—1.2
大连黄金山	紫红色	3—10	0.5—2
大连黑石礁	紫红色	7—26	1—2
大连付家庄	紫红色	8—32	1—2.5
大连金石滩	红色	6—13	0.2-0.8
大连獐子岛	红色	5—19	0.4—1.6

成熟雌雄配子体与成熟四分孢子体长度接近,但四分孢子体更宽,雌雄配子体宽 0.8—1.5cm,四分孢子体宽 1.5—2.5cm。12 月初,雌雄配子体幼苗开始出现,长度小于 1cm,在 12 月中旬,藻体长度达到1—2cm,12 月下旬,藻体长度达到 5—6cm。1 月,藻

体快速生长,长度达到 10—13cm。2月,藻体长度达到 15—17cm; 2月末,四分孢子体幼苗开始出现,长度小于 1cm(图 3a)。3月初,藻体长度达到 2—3cm(图 3b),3月中旬,藻体长度达到 7—8cm(图 3c),3月下旬,藻体长度达到 11—14cm(图 3d)。4月,藻体长度达到 16—19cm(图 3e),其中最大长度可达 32cm(图 3f)。5—6月,当单条胶黏藻的四分孢子释放完成后,藻体颜色逐渐变浅、腐烂消失。

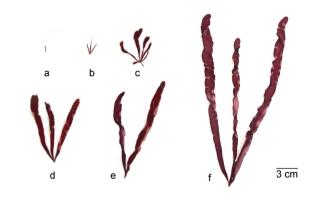


图 3 单条胶黏藻四分孢子体个体形态的变化 Fig.3 Morphology of individual *D. simplex* in different months 注: a: 2月下旬四分孢子体幼苗; b—d: 3月藻体形态; e: 4月藻体形态; f: 最大成熟四分孢子体

2.2 单条胶黏藻的营养结构与生殖结构

营养结构:藻体由皮层与髓部组成,厚度为85—160µm。皮层由4—8层细胞组成。外皮层由2—3层细胞组成,细胞小,排列紧密。内皮层细胞稍大,由4—6层不规则的方形或卵形细胞组成。髓部排列

着疏松的根丝细胞, 长 24—63μm, 宽 2—3μm (图 4a—c)。

生殖结构:果胞枝生长于一个支持细胞,由 4—6个细胞组成(图 4d, e),辅助细胞枝生于内皮层细胞上,由 3—7个细胞组成(图 4f)。囊果散生,包埋于皮层内,刚发育的囊果较小,色淡(图 4g),随着藻体生长囊果变大,颜色加深(图 4h)。成熟藻体囊果数量较多、分布较密,成熟囊果的果孢子数量为 12—20个,果孢子直径在 8—18µm 之间(图 4i)。四分孢子囊侧生在内皮层细胞上,排列较密,四分孢子囊母细胞 近球形(图 4j), 经过减数第一次分裂形成二分体(图 5k), 减数分裂完成后形成四分孢子囊, 成熟的四分孢子囊呈十字形分裂(图 4l), 四分孢子呈不规则方形, 直径 24—32μm。

2.3 单条胶黏藻生物量、成熟个体比例与 R/T 指数的变化

通过统计 12 月至次年 6 月每个采集地点每个样 方内的数据发现, 12 月至次年 4 月, 单条胶黏藻的平 均生物量一直在增大, 其中雌雄配子体于 1 月快速生 长, 四分孢子体于 3 月快速生长, 4 月平均生物量达到

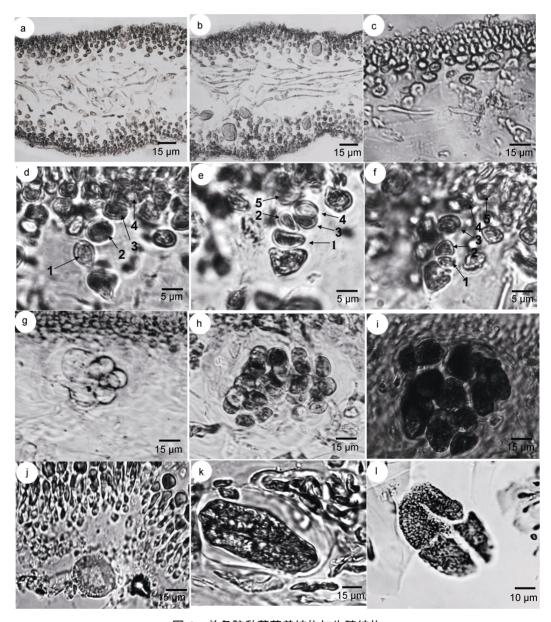


图 4 单条胶黏藻营养结构与生殖结构

Fig. 4 The vegetative structures and reproductive structures of *D. simplex* 注: a—c: 藻体横切面观,由皮层和髓部构成; d, e: 果胞枝切面观; f: 辅助细胞枝切面观; g—i: 囊果发育过程; j: 四分孢子囊母细胞切面观; k: 二分体切面观; l: 成熟四分孢子囊呈十字分裂

顶峰, 平均生物量为 4.384g/m²(表 4), 其中黑石礁和付家庄采集点的单条胶黏藻的平均生物量最高, 分别为 4.729 和 4.583g/m², 5—6 月随着海水温度升高, 平均生物量逐渐减小, 7—11 月未采集到单条胶黏藻个体。

当单条胶黏藻的雌雄配子体上出现生殖器官果胞与精子囊,四分孢子体上出现四分孢子囊时藻体即成熟。12 月下旬单条胶黏藻雌雄配子体上出现生殖器官果胞和精子囊、样方内成熟个体比例为

10%(表 5), R/T 指数为 8%(表 6)。1 月下旬囊果集中成熟,成熟个体比例为 54%, R/T 指数为 47%。2 月下旬果孢子完全释放,成熟个体比例为 72%, R/T 指数为 68%。3 月下旬观察到四分孢子囊,成熟个体比例为 81%, R/T 指数为 82%。4 月四分孢子囊大部分成熟,四分孢子体比例逐渐增大,成熟个体比例为 88%, R/T 指数为 82%。5 月未观察到雌雄配子体,藻体均为四分孢子体,成熟个体比例为 95%, R/T 指数为 89%。6 月成熟个体比例与 R/T 指数均为 100%。

表 4 单条胶黏藻生物量的变化 Tab.4 Variation in the biomass of *D. simplex*

月 —	生物量(g/m²)											
份	平均生物量	青岛鲁 迅公园	荣成 楮岛	烟台 养马岛	山海关 老龙头	兴城 菊花岛	大连 黄金山	大连 黑石礁	大连 付家庄	大连 金石滩	大连 獐子岛	
12	0.507	0.342	0.451	0.471	0.512	0.473	0.536	0.672	0.599	0.495	0.519	
1	1.264	1.112	1.032	1.243	1.301	1.052	1.341	1.571	1.490	1.221	1.273	
2	2.615	1.867	1.991	1.853	2.207	2.035	2.302	2.482	2.448	2.142	2.323	
3	4.415	3.789	3.943	3.864	4.152	4.135	4.312	4.613	4.536	4.152	4.231	
4	4.384	4.143	4.213	4.121	4.423	4.124	4.464	4.729	4.583	4.515	4.525	
5	3.163	2.898	2.843	2.953	3.241	3.152	3.342	3.554	3.462	3.212	3.152	
6	1.532	1.342	1.312	1.218	1.612	1.563	1.521	1.833	1.697	1.621	1.601	

表 5 单条胶黏藻成熟个体比例变化
Tab.5 Variation in the mature individual proportion of D. simplex

		140.5	variati	on m the n	nature mary	radai prop	ortion or D	simplex			
月 份	平均成熟个体比例 (%)	成熟个体比例(%)									
		青岛鲁 迅公园	荣成 楮岛	烟台 养马岛	山海关 老龙头	兴城 菊花岛	大连 黄金山	大连 黑石礁	大连 付家庄	大连 金石滩	大连 獐子岛
12	10	8	9	7	11	9	10	15	14	9	8
1	54	51	50	52	55	51	50	60	56	58	57
2	72	72	71	69	74	73	72	76	74	71	70
3	81	79	81	80	80	78	81	85	84	82	80
4	88	87	85	86	88	87	84	92	92	90	89
5	95	94	92	93	96	95	94	97	96	96	97
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

表 6 单条胶黏藻 *R/T* 指数的变化 Tab.6 Variation in the *R/T* ratio of *D. simplex*

月 份	平均 R/T 指数 - (%)	ア									
		青岛鲁 迅公园	荣成 楮岛	烟台 养马岛	山海关 老龙头	兴城 菊花岛	大连 黄金山	大连 黑石礁	大连 付家庄	大连 金石滩	大连 獐子岛
12	8	6	8	4	9	7	8	14	13	8	7
1	47	45	45	47	48	46	43	50	49	49	49
2	68	68	68	65	69	67	68	73	72	67	64
3	82	80	80	81	81	80	83	84	83	83	81
4	82	81	82	81	83	81	80	84	83	83	82
5	89	90	88	89	88	89	89	90	90	87	89
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

2.4 单条胶黏藻的温度性质分析

海藻的温度性质是海藻区系性质中最主要的一项。 关于海藻区系的温度性质, 可分为寒带区系(<0--5°C)、 亚寒带区系(5-10°C)、温带区系(10-20°C)、亚热带 区系(20-30°C)和热带区系(25-30°C 或以上)。单条胶 黏藻主要分布在黄、渤海沿岸, 且单条胶黏藻的生长 周期为 12 月至次年 6 月、属于一年生海藻、而大连市 在纬度上位于本研究设置的采样地点的中部, 故以大 连市为例、根据大连市 12 月至次年 6 月的海水温度变 化分析单条胶黏藻的温度性质。12 月至次年 1 月、海水 温度从 10.5°C 降至 6.3°C, 这段时间单条胶黏藻雌雄配 子体快速生长、平均生物量迅速增大。2—4 月海水温度 从 4.6°C 升至 8.1°C, 这段时间单条胶黏藻四分孢子体 快速生长,平均生物量迅速增大。5—6 月海水温度从 10.6°C 升至 15.3°C、单条胶黏藻生物量逐渐减少、并且 7—11 月未采集到单条胶黏藻个体。综上所述、单条胶 黏藻的适宜生长温度在 4.6—10.6°C, 故单条胶黏藻的 温度性质属干亚寒带性。

2.5 rbcL、COI 基因序列分析

2.5.1 rbcL 基因序列分析 本研究共获得 30 条 rbcL 序列, 但每个采集地点所测得序列完全相同, 故 从每个采集地点选取 1 条 rbcL 序列提交到 GenBank 中、所获得登录号为: MG195956、 MG195957、 MG195958、MG195959、MG195960、MG195961、 MG195962、MG195963、MG195964、MG195965。 比对序列共 13 条、序列矩阵长度为 1220bp。基于 ML 法、NJ 法和 MP 法构建了 rbcL 序列的系统发育树、三 种方法所构建的发育树拓扑结构比较相似、故均以 ML 法所构建系统发育树的拓扑结构显示。序列比对 结果如图 5 所示、本研究的 30 个样本之间无碱基差 异、与产自美国的单条胶黏藻在系统树中聚在一个 分支中, 无碱基差异, 确定为单条胶黏藻。与胶黏藻 属内的 Dumontia contorta (Gmelin) Ruprecht 碱基序 列差异为 90bp (8.34%)。 与外群种蜈蚣藻属 Grateloupia 的带形蜈蚣藻 G. turuturu 的碱基差异为 174bp (11.67%).

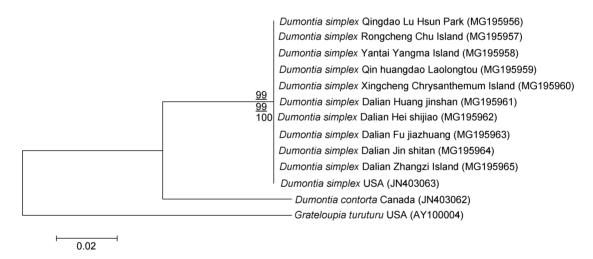


图 5 基于 rbcL 序列所构建的 ML 系统发育树

Fig.5 The Maximum likelihood (ML) tree was based on *rbc*L sequences 注: 节点的数值表示自展支持值,从上至下分别表示 ML、NJ、MP,自展值只显示大于 50%

2.5.2 COI 基因序列分析 本研究共获得 30 条 COI 序列,但每个采集地点所测得序列完全相同,故从每个采集地点选取 1 条 COI 序列提交到 GenBank中,所获得登录号为: MG200060、MG200061、MG200062、MG200063、MG200064、MG200065、MG200066、MG200067、MG200068、MG200069,比对序列共 13 条,序列矩阵长度为 663bp。基于 ML 法、NJ 法和 MP 法构建了 COI 序列的系统发育树,三种

方法所构建的发育树拓扑结构比较相似,故均以 ML 法所构建系统发育树的拓扑结构显示。序列比对结果如图 6 所示,本研究的 30 个样本之间无碱基差异,与产自美国的单条胶黏藻在系统树中聚在一个分支中,碱基差异为 2bp (1.30%),确定为单条胶黏藻,与胶黏藻属内 Dumontia contorta 碱基序列差异为 75bp (6.88%)。与外群种蜈蚣藻属 Grateloupia 的带形蜈蚣藻 G. turuturu 的碱基差异为 117bp (8.12%)。

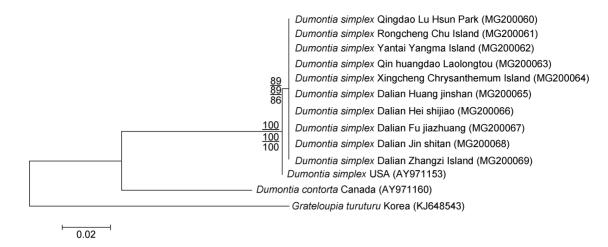


图 6 基于 COI 序列所构建的 ML 系统发育树

Fig.6 The maximum likelihood (ML) tree based on the COI sequences 注: 节点的数值表示自展支持值,从上至下分别表示 ML、NJ、MP,自展值只显示大于 50%

3 讨论

本文通过观察单条胶黏藻的生长周期、发现单 条胶黏藻属于一年生海藻、生活史为典型的同型世 代交替, 这与姜朋等(2016)在研究单条胶黏藻孢子早 期发育及生活史时得到的结论一致。12 月初单条胶 黏藻幼苗出现,而这些小的个体可能是四分孢子在 夏天和初秋阶段休眠, 进入 11 月后海水温度大幅降 低开始发育形成。囊果在1月下旬集中成熟,四分孢 子囊在 4 月大部分成熟, 这与曾呈奎(2009)在中国黄 渤海海藻中描述的单条胶黏藻囊果 12 月至次年 1 月 成熟、四分孢子囊冬季至春季成熟结论一致。曾呈奎 等(1960)在研究海藻区系性质时认为适宜生长温度在 5-10°C 的海藻的温度性质为亚寒带性, 本次研究发 现单条胶黏藻的适宜生长温度在 4.6—10.6°C 之间, 其温度性质属于亚寒带性、故单条胶黏藻主要分布 在黄、渤海沿岸的山东与辽宁大连、同时发现单条胶 黏藻在辽宁省兴城市与河北省山海关均有分布、研 究结果丰富了单条胶黏藻在中国的分布范围。

Tokida 等(1964)研究了单条胶黏藻的外部形态, 认为四分孢子体在形态上大于配子体, 本研究通过 测量四分孢子体与配子体的长度和宽度发现, 二者 在长度上接近, 但四分孢子体更宽。12 月至次年 2 月 雌雄配子体快速生长, 导致生物量迅速增大, 囊果于 2 月全部成熟并完全释放果孢子, 所以 2 月下旬至 4 月雌配子观察到的雌雄配子体均为成熟个体, 四分孢子体于 3 月快速生长, 导致生物量再一次迅速增大。四分孢子囊在 4 月集中成熟, 所以成熟个体比例与 R/T指数于 4 月开始迅速增大, 随着海水温度升高,

配子体于 4 月开始腐烂消失, 四分孢子体于 5—6 月 颜色开始变浅、腐烂消失。

十个采集地点的单条胶黏藻在外部形态、营养结 构与生殖结构上与夏邦美(2004)与曾呈奎(2009)的描 述一致。根据 rbcL 序列所构建的 ML 系统发育树(图 5)中、本研究中的 30 个样本与产自美国的单条胶黏 藻聚在一起、形成一个独立的分支、自展值为 99、区 别于其他种, 验证了本研究的 30 个样本为单条胶黏 藻。根据 COI 序列所构建的 ML 系统发育树(图 6)显 示, 本研究的 30 个样本聚集在一起, 形成一个独立 的分支、与产自美国的单条胶黏藻聚在一起、自展值 为 100、区别于其他种、验证了本研究的 30 个样本为 单条胶黏藻、但本研究的 30 个样本与产自美国的单 条胶黏藻存在 2bp (1.30%)碱基差异, Le Gall 等(2010) 研究了 DNA 条形码技术对于研究海藻种类多样性的 作用、认为海藻序列碱基差异小于 2%属于种内差异、 所以本研究的 30 个样本与产自美国的单条胶黏藻属 于同一物种,确定为单条胶黏藻。

杨国峰等(2003)进行大型海藻对富营养化海水养殖区生物修复的研究与展望时,发现海带、龙须菜、条斑紫菜等大型海藻,生产力很高,在生长过程中可大量吸收碳、氮、磷等生源要素,在水生态系统碳循环和减缓富营养化方面有很重要的作用。林贞贤等(2006)描述了大型海藻对富营养化海湾生物修复的研究进展,发现紫菜、海带、裙带菜等大型海藻生物量大,生产力高,在生长过程中能大量吸收碳、氮、磷等营养物质,能缓解海水富营养化问题。本研究发现大连黑石礁与付家庄的单条胶黏藻在外部形态与

平均生物量上均明显大于其他采集地点。通过观察,这两处采集地点附近均存在污水处理管道将污水直接排入海中,海水富营养化问题较其他采集地点严重,所以我们推测单条胶黏藻在生长过程中也能大量吸收碳、氮、磷等营养物质和重金属,能缓解海水富营养化,对海洋生态系统的保护与修复具有重要的作用。

4 结论

基于形态结构观察与 rbcL、COI 基因序列分析,本研究的 30 个样本均为单条胶黏藻。单条胶黏藻分布在黄、渤海的沿岸的山东省青岛、烟台与威海,河北省的山海关,辽宁省的大连与兴城。单条胶黏藻生长周期为 12 月至次年 6 月,属于一年生海藻。其中配子体繁殖盛期为 1—2 月,四分孢子体繁殖盛期为 4 月。单条胶黏藻的温度性质属于亚寒带性。推测单条胶黏藻能缓解海水富营养化,对于潮间带生态系统的保护与修复具有重要意义。

参考文献

- 中国国家标准化管理委员会, 2007. 海洋调查规范——第6部分: 海洋生物调查. 北京: 中国标准出版社, 48—50
- 王 健, 2010. 青岛沿海绿潮藻类鉴定技术研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 42—50
- 邓蕴彦, 汤晓荣, 黄冰心等, 2011. 强壮硬毛藻(*Chaetomorpha valida*)的温度性质及其在中国海藻区系中的扩散潜力. 海洋与湖沼, 42(3): 404—408
- 李 芳, 2016. 四种红藻的形态学观察和分子系统学研究. 大连: 辽宁师范大学硕士学位论文, 50—51
- 杨国峰, 费修绠, 2003. 大型海藻对富营养化海水养殖区生物 修复的研究与展望. 青岛海洋大学学报, 33(1): 53—57
- 迟永雪, 王丽梅, 栾日孝等, 2009. 中国硬毛藻属新记录种— 强壮硬毛藻. 水产科学, 28(3): 162—163

- 林贞贤, 汝少国, 杨宇峰, 2006. 大型海藻对富营养化海湾生物修复的研究进展. 海洋湖沼通报, (4): 128—134
- 罗民波, 刘 峰, 2015. 南黄海浒苔绿潮的发生过程及关键要素研究进展. 海洋渔业, 37(6): 570—574
- 姜 朋, 2016. 四种杉藻目红藻的形态观察、个体生态学及分子系统学研究. 大连: 辽宁师范大学硕士学位论文, 21—32
- 姜 朋,赵树雨,王宏伟等,2016. 单条胶黏藻(Dumontia simplex Cotton)孢子早期发育及其生活史的研究. 海洋与湖沼,2016,47(1):151—157
- 夏邦美, 2004. 中国海藻志. 北京: 科学出版社, 57—59 曾呈奎, 2009. 中国黄渤海海藻. 北京: 科学出版社, 134—140 曾呈奎, 张骏甫, 1960. 关于海藻区系性质的分析. 海洋与湖沼, 3(3): 177—187
- Hasegawa Y, Fukuhara E, 1955. Ecological studies on *Iridophycus cornucopiae* (P. et R.) Setch. et Gardn. 3. On the seasonal change of the number of female gametophytes and tetrasporophytes II. Bull Hokkaido Reg Fish Res Lab, 12: 16—22
- Le Gall L, Saunders G W, 2010. DNA barcoding is a powerful tool to uncover algal diversity: a case study of the Phyllophoraceae (Gigartinales, Rhodophyta) in the Canadian flora. Journal of Phycology, 46(2): 374—389
- Saunders G W, 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462): 1879—1888
- Saunders G W, Lindstrom S C, 2011. A multigene phylogenetic assessment of the *Dilsea/Neodilsea* species complex (Dumontiaceae, Gigartinales) supports transfer of *Neodilsea* natashae to the genus *Dilsea*. Botanica Marina, 54(5): 481—486
- Su X R, Liu H H, Paul C K, 2004. Main nutritional contents of 30 Dalian coastal microalgae species. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 22(4): 436—439
- Tokida J, Komatsu S, Kaneko T, 1964. Studies on the reproductive organs of red algae: IV. On *Dumontia simplex* cotton. Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, 15(2): 63—68

GROWTH STATUS AND MOLECULAR SYSTEMATICS OF DUMONTIA SIMPLEX

WANG Yong-Yu, WANG Hao-Lin, LI Jia-Jun, WANG Hong-Wei (College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116081, China)

Abstract Dumontia simplex Cotton populations were sampled at 10 sites in the coast of the Yellow Sea and Bohai Sea in Shandong, Hebei, and Liaoning provinces, and their morphological structure, biomass variation, mature individual proportion, and temperature property, as well as the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rbcL) gene, and the partial cytochrome coxidase I (COI) gene sequences were analyzed. The results indicated that: (1) thallus of the 10 sites were erect and flattened or in heliciform, gelatinous in texture, red or purplish red, but the length and width of thallus in Heishijiao and Fujiazhuang sites in Dalian were significantly greater than the other samples. (2) Thallus were composed of cortex and medulla, the cortex had 4-8 layers, and the medulla was consisted of many loosened rhizoidal filaments. Cystocarps distributed and embedded throughout the whole thallus. The newly developed cystocarp was smaller and light-colored. With thallus growth, cystocarps gradually enlarged and became darker in color. The mature tetrasporangia were formed from the inner cortex cells, and cruciately divided. (3) The average maximum biomass was 4.384g/m² appeared in April. From December to June, the proportion of mature individuals increased gradually, reaching 100% in June, and all of thallus were tetrasporophytes. (4) D. simplex belonged to annual algae. The growth period was from December to June. The temperature property of D. simplex is subfrigid. (5) According to the phylogenetic tree constructed by rbcL gene sequences and COI gene sequences, there were no sequence divergence among the 10 sites in this research. The 10 samples and that from USA clustered in a single monophyletic subclade; they were all identified as D. simplex.

Key words Dumontia simplex; morphological structure; biomass; temperature property; molecular systematics