

文章编号: 1674 - 5566(2015)03 - 0365 - 10

黄海绿潮暴发前江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体分布特征

韩红宾^{1,2}, 华 梁^{1,2}, 霍元子^{1,2}, 张建恒^{1,2}, 吴海龙^{1,2}, 韦章良^{1,2}, 陈群芳^{1,2}, 何培民^{1,2}

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 海洋科学研究院海洋生态环境与修复研究所, 上海 201306)

摘 要: 对 2012 年 12 月至 2013 年 4 月黄海绿潮暴发前江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体时空分布特征进行了研究。结果表明, 在每月的调查中, 调查海域绿藻显微繁殖体密度高值区均集中在如东近岸紫菜养殖海域。调查海域绿藻显微繁殖体数量在时间分布上呈逐渐升高的趋势。2012 年 12 月至 2013 年 4 月调查海域平均绿藻显微繁殖体数量分别为 56、71、471、550 和 1 049 ind/L。应用 ITS 序列与 5S rDNA 间隔序列分析并构建系统发育树发现, 江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体种类组成为浒苔 (*Ulva prolifera*) 和曲浒苔 (*Ulva flexuosa*)。通过对调查海域绿藻显微繁殖体种类构成比例分析发现, 在绿潮暴发前 2 - 4 月, 黄海绿潮优势种浒苔显微繁殖体成为江苏紫菜养殖海域的优势种。大量绿藻显微繁殖体可以在春末海区温度回升时期迅速萌发, 因此推测江苏紫菜养殖海域存在的大量绿藻显微繁殖体为黄海绿潮的暴发提供了种子库。

研究亮点: 通过对江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体调查发现, 该海域在绿潮暴发前存在一定数量的绿藻显微繁殖体, 并且在时间分布上呈逐渐升高的趋势。应用 ITS 序列与 5S rDNA 间隔序列分析发现绿潮藻显微繁殖体种类为浒苔和曲浒苔。

关键词: 黄海; 紫菜养殖区; 绿潮; 浒苔; 显微繁殖体

中图分类号: Q 145

文献标志码: A

绿潮 (green tides) 是大型海洋绿藻大量繁殖引发其在潮间带和浅海区生物量大量累积而产生的一种生态异常现象^[1-2]。在 2008 年, 绿潮对北京奥运会青岛奥帆赛的进行造成严重影响^[3]。绿潮溯源和探究绿藻繁殖体来源是阐明绿潮暴发的重要内容^[4]。目前有学者认为江苏紫菜养殖规模不断扩大导致了绿潮暴发^[5-8]。但是 ZHANG 等^[9] 通过利用 5SrDNA 间隔序列对漂浮和紫菜筏架上采集的浒苔进行分析, 否认紫菜养殖规模的扩大造成绿潮暴发这一假说。

绿藻显微繁殖体是指放散的孢子、配子、合子以及不同生长阶段显微个体的统称^[10] (图版)。漂浮绿藻繁殖高峰期, 平均每株藻体能产

生千万数量级的配子或孢子^[11]。在光照、温度及营养盐等环境因子适宜的情况下, 巨大数量的绿藻显微繁殖体迅速萌发并生长成为漂浮藻体^[12]。LIU 等^[13] 研究发现南黄海的水样及泥样中都存在绿藻显微繁殖体。方松等^[14] 研究发现 2011 年 3 - 5 月南黄海绿藻显微繁殖体密度高值区主要集中在紫菜养殖海域。本文主要对 2012 年 12 月至 2013 年 4 月江苏条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 养殖海域绿藻显微繁殖体丰度时空分布特征进行调查, 应用 ITS 序列与 5S rDNA 间隔序列对江苏紫菜养殖海域显微繁殖体种类组成进行分析。为阐明我国黄海绿潮暴发机制及溯源研究提供依据。

收稿日期: 2014-11-05 修回日期: 2014-12-10

基金项目: 国家海洋公益性项目 (201205010, 201105023); 科技部支撑计划项目 (2012BACD7B03); 海洋赤潮灾害监测重点实验室开放课题 (MATHAB201301)

作者简介: 韩红宾 (1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为黄海绿潮藻显微繁殖体及绿潮藻分子鉴定。E-mail: 1412099495@qq.com

通信作者: 何培民, E-mail: pmhe@shou.edu.cn

1 材料与amp;方法

1.1 站位设置

根据江苏主要紫菜养殖海域分布状况和近年来绿潮早期发生海域(E: 121° - 121.84°; N: 32.12° - 33.2°)^[5], 在启东近岸(QD)、腰沙(YS)、如东近岸(RD-1 和 RD-2)、蒋家沙(JJS-1 和 JJS-2)、竹根沙(ZGS-1 和 ZGS-2)和东沙(DS-1 和 DS-2)紫菜养殖海域共设置调查站位 10 个(图 1)。从 2012 年 12 月至 2013 年 4 月连续 5 个月对江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体共进行 5 个航次的调查取样。

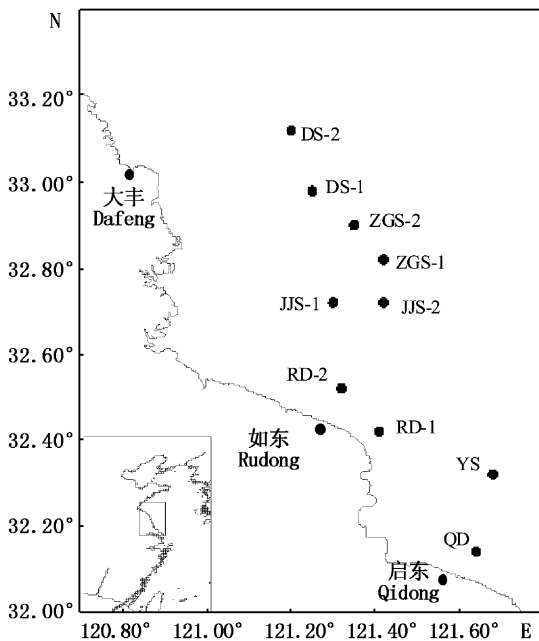


图 1 采样站位分布

Fig. 1 The distribution of sampling stations

1.2 绿藻显微繁殖体样品采集和培养

表层海水用 HQM-1 型有机玻璃采水器采集, 每个站位取水样 1 L, 经孔径 160 μm 的筛绢过滤后, 低温避光运输至实验室。将每个站位的海水样品分装至两个经 10% HCl 浸泡 10 h 并经蒸馏水充分冲洗的 500 mL 烧杯中做平行样, 经 GeO_2 -VSE 加富至水体中 DIN 浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$, PO_4 -P 浓度为 30 $\mu\text{mol/L}$ 。然后将加富过的海水样品静置培养于温度为 16 ~ 18 $^\circ\text{C}$ 、光照强度为 80 ~ 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、光照周期为 12 L: 12 D 的光照培养箱中。静置培养 7 d 后, 将经 CuSO_4 溶液过滤后的空气充进烧杯中, 进行充气培养。在培养过程中, 每隔 7 d 对培养溶液进行加富。经 3 ~

4 周后, 在烧杯壁和烧杯底部可以看到浒苔幼苗, 这些幼苗是包括不同浒苔物种的孢子、配子、合子及其不同发育阶段的显微个体形成的, 此时可以统计幼苗的总数, 即可以确定每升海水中浒苔类藻体显微阶段的繁殖体数。

1.3 调查海域环境参数的测定

温度、盐度和 pH 环境参数用 RBR(XR-620-CTDTu18550) 现场直接读取。按照《海洋调查规范》(GB12763.4—2007)^[15] 将现场抽滤过的水样带回实验室, 进行氨氮(NH_4 -N)、亚硝酸盐氮(NO_2 -N)、硝酸盐氮(NO_3 -N) 和磷酸盐(PO_4 -P) 的测定。本文中以 NH_4 -N、 NO_2 -N 和 NO_3 -N 浓度之和作为溶解无机氮(DIN) 含量, 以 PO_4 -P 作为溶解无机磷(DIP) 含量。

1.4 绿海藻基因组提取与 PCR 扩增

将水样中培养出的藻体按照形态进行初步分类, 每个断面挑选出不同形态的健康藻体。无菌海水清洗干净, 用上海净信冷冻组织研磨仪(型号: JSFstgrp-24) 研磨藻体, 按照天根公司植物基因组小量抽提试剂盒 DP305 说明书提取基因组 DNA^[9], ITS 和 5S rDNA 间隔序列引物设计以及扩增程序参照 SHIMADA 等^[16]。利用 ITS 进行 PCR 扩增, PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后, 合格的扩增产物直接送生工生物工程(上海) 有限公司测序。对 LPP 类群(*Ulva linza-procera-prolifera*) 进一步用 5S rDNA 间隔区序列扩增, 扩增产物直接测序或切胶回收测序。

1.5 数据分析

应用 Clustal W 软件对样品的 ITS 序列及 5S rDNA 间隔序列进行多序列比对分析。然后应用 Mega 5.1 软件基于 Kimura 双参数法计算遗传距离, 以 *Monostromagrevillei*、*Percursariapercursa* 做为外类群, 采用邻接法(Neighbor Joining, NJ) 构建聚类树, 通过 Bootstrap 方法计算支持率, 重复 1 000 次。支持率小于 50% 的进化枝, 数值省略。

对水温、盐度、pH 和营养盐成分进行 one-way ANOVA 方差分析, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著性水平, 所得数据均以平均值 \pm 标准差($\bar{X} \pm \text{SD}$) 表示。

2 结果

2.1 温度、盐度、pH 和无机营养盐

2012 年 12 月, 调查海域平均海水温度为

9.10 °C, 2013 年 1 月海水温度最低约为 4.62 °C, 2013 年 2 月、3 月、4 月调查海域海水温度持续上升, 4 月平均水温达到 9.86 °C。调查期间该海域盐度(29.15 ~ 30.39)和 pH(8.03 ~ 8.11)没有显著的变化。2013 年 1 月调查海域无机磷含量最

低约为 0.012 mg/L。2013 年 4 月无机磷含量显著低于 2012 年 12 月和 2013 年 3 月($P < 0.05$)。调查海域无机氮含量为 0.32 ~ 0.76 mg/L, 2013 年 3 月无机氮含量为 0.76 mg/L, 显著高于其他月份($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 2012 年 12 月至 2013 年 4 月江苏南黄海紫菜养殖海域部分环境因子均值

Tab.1 Means (\pm standard deviation) of some ecological factors in the *Porphyra* aquaculture regions along the southern coast of the Yellow Sea from December 2012 to April 2013

参数 parameter	2012-12	2013-1	2013-2	2013-3	2013-4
T/°C	9.10 \pm 1.49	4.62 \pm 0.86	5.32 \pm 0.99	9.69 \pm 0.38	9.86 \pm 0.64
S	29.15 \pm 1.67	30.00 \pm 1.87	30.39 \pm 1.53	29.54 \pm 1.54	29.90 \pm 2.72
pH	8.03 \pm 0.06	8.03 \pm 0.06	8.10 \pm 0.04	8.11 \pm 0.02	8.07 \pm 0.08
PO ₄ -P/ (mg/L)	0.019 \pm 0.006	0.012 \pm 0.009	0.016 \pm 0.004	0.017 \pm 0.007	0.013 \pm 0.006
DIN/(mg/L)	0.36 \pm 0.17	0.32 \pm 0.16	0.41 \pm 0.29	0.76 \pm 0.42	0.39 \pm 0.20

2.2 绿藻显微繁殖体时空分布

2012 年 12 月至 2013 年 4 月江苏紫菜养殖海域均有不同数量绿藻显微繁殖体存在。在调查期间, 江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体每月的密度高值区均出现在如东近岸紫菜养殖海域。2012 年 12 月和 2013 年 2 月, 启东近岸绿藻显微繁殖体数量最低。2013 年 1 月, 腰沙紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体数量最低。2013 年 3-4 月, 调查海域绿藻显微繁殖体数量最低点出现在东沙紫菜养殖海域。在调查期间, 启东近岸、腰沙、如东近岸、蒋家沙、竹根沙和东沙紫菜栽培养殖海域平均绿藻显微繁殖体数量分别为 238、324、1 094、431、346 和 202 ind/L。调查海域绿藻显微繁殖体数量在空间分布上表现为如东近岸紫菜养殖海域显著高于其他紫菜养殖海域(图 2)。

启东近岸、腰沙、如东近岸、蒋家沙、竹根沙和东沙紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体数量最高值均出现在 2013 年 4 月。在调查期间, 启东紫菜栽培海域在 2013 年 2 月份绿藻显微繁殖体数量最低。腰沙、如东近岸和竹根沙紫菜养殖海域在 2013 年 1 月绿潮显微繁殖体数量最低。蒋家沙和东沙紫菜养殖海域最低绿藻显微繁殖体数量出现在 2012 年 12 月。2012 年 12 月至 2013 年 4 月调查海域平均绿藻显微繁殖体数量分别为 56、71、471、550 和 1 049 ind/L。调查海域绿藻显微繁殖体数量在时间分布上呈现逐渐升高的趋势

(图 3)。

2.3 江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体种类组成

从基于 ITS 序列建立的进化树(图 4)可以看出, 样品主要位于两个进化枝中, 分别为 LPP 进化枝和曲浒苔进化枝。通过 5S rDNA 间隔序列进一步对 LPP 类群分析, 构建进化树(图 5), 发现聚为一枝为浒苔。在调查期间, 江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体种类组成为浒苔和曲浒苔。

2012 年 12 月, 如东近岸和东沙紫菜养殖海域仅检测到一种绿藻显微繁殖体, 分别为浒苔和曲浒苔。其他紫菜养殖海域均已出现浒苔和曲浒苔显微繁殖体。并且除如东近岸紫菜养殖海域外, 曲浒苔显微繁殖体均为其他紫菜养殖海域优势种。2013 年 1 月, 如东近岸和蒋家沙紫菜养殖海域仅检测到浒苔显微繁殖体, 曲浒苔显微繁殖体在其他紫菜养殖海域构成比例明显降低。曲浒苔显微繁殖体在腰沙和东沙紫菜养殖海域却仍为优势种, 但构成比例下降到 56.8% 和 62.1%。曲浒苔显微繁殖体在启东和竹根沙紫菜养殖海域构成比例仅为 42.3% 和 49.3%。2013 年 2-4 月, 浒苔显微繁殖体为江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体的优势种, 曲浒苔显微繁殖体数量呈逐月下降的趋势。2014 年 4 月, 仅在腰沙和如东近岸紫菜养殖海域检测到曲浒苔显微繁殖体, 构成比例分别为 17.4% 和 14.5%。

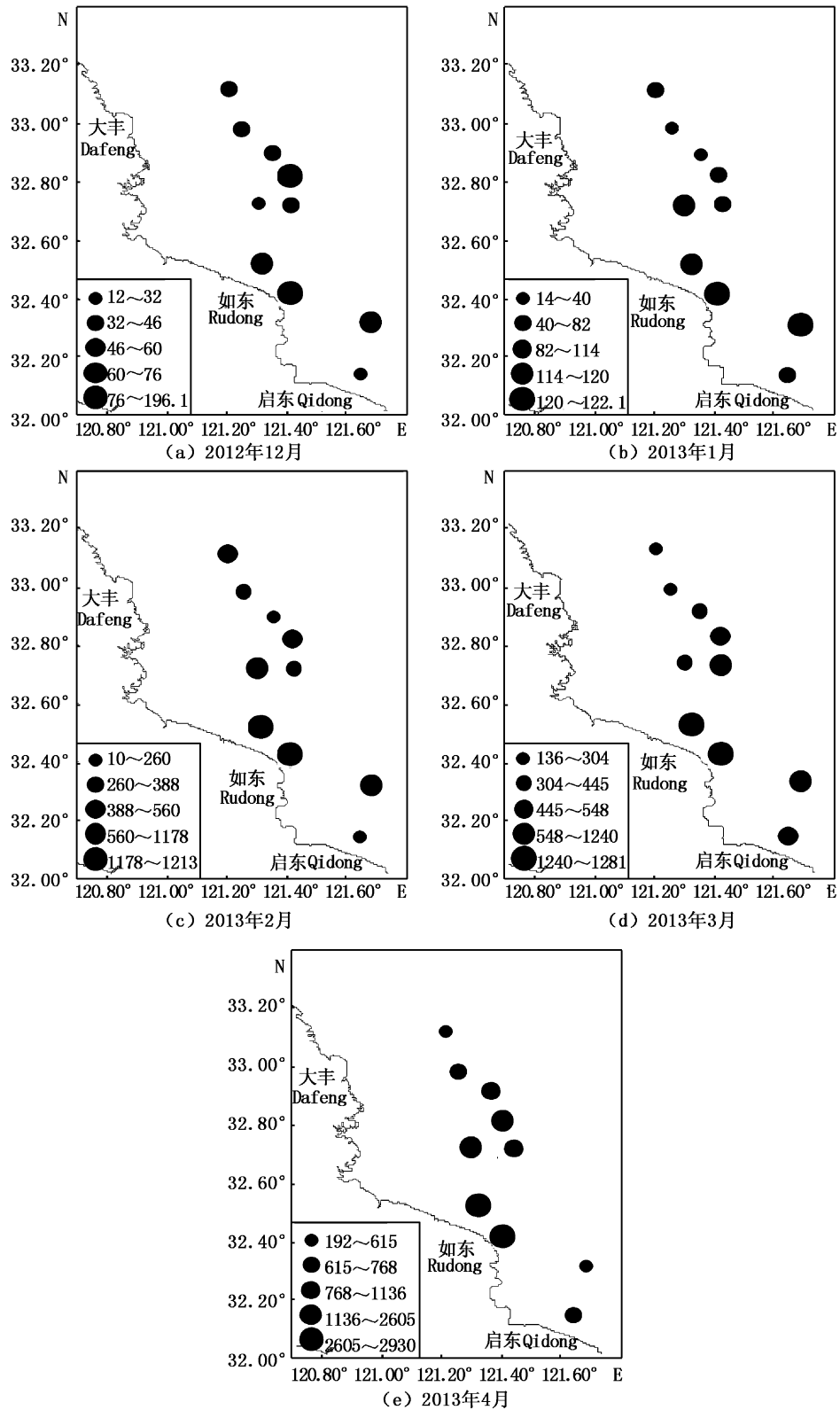


图2 江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体分布特征 (ind/L)
 Fig.2 Quantitative distribution properties of *Ulva* microscopic propagules in *Porphyra* aquaculture regions in Jiangsu (ind/L)

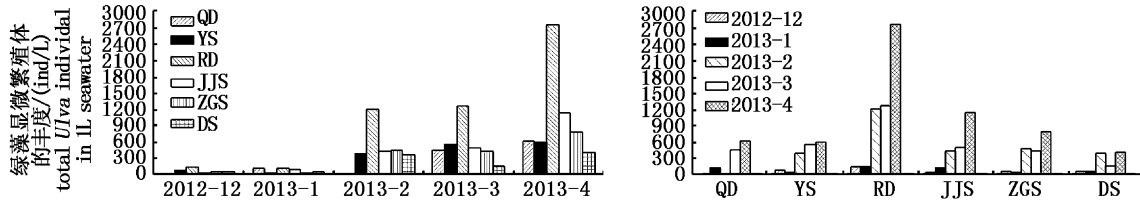


图3 2012年12月至2013年4月江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体平均数量
Fig.3 The average quantity of *Ulva* microscopic propagules in the water column at each *Porphyra* aquaculture region in Jiangsu from Dec.2012 to Apr.2013

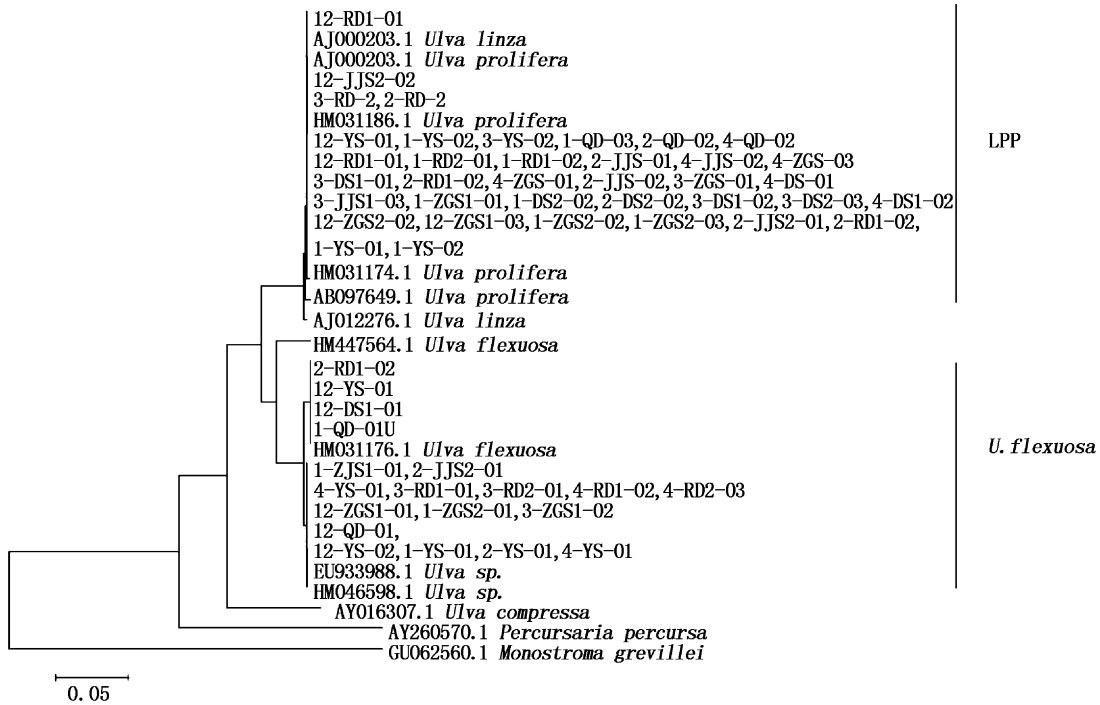


图4 基于江苏紫菜养殖海域显微繁殖体绿藻样品的 ITS 序列构建进化树
Fig.4 NJ tree constructed from the analysis based on ITS sequences of *Ulva* microscopic propagules samples and those downloaded from GenBank. Bootstrap values (1 000 replicates)

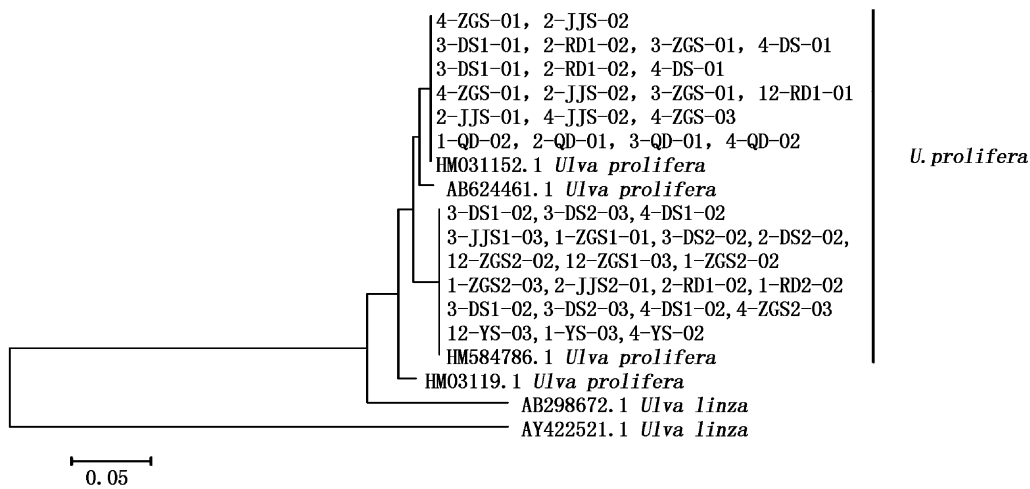


图5 基于江苏紫菜养殖海域显微繁殖体绿藻 LPP 类群样品的 5S rDNA 间隔序列构建进化树
Fig.5 NJ tree constructed from the analysis based on 5S rDNA spacer sequences of *Ulva* microscopic propagules samples and those downloaded from GenBank. Bootstrap values (1 000 replicates)

表2 2012年12月至2013年4月江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体种类组成及构成比例
 Tab.2 Species composition of each transect and proportion of each species to total biomass 1 of *Ulva* species in *Porphyra* aquaculture region in Jiangsu from Dec. 2012 to Apr. 2013 %

时间 time	启东 QD	腰沙 YS	如东 RD	蒋家沙 JJS	竹根沙 ZGS	东沙 DS
2012-12	曲浒苔(58.1) 浒苔(41.9)	曲浒苔(63.8) 浒苔(36.2)	浒苔(100)	曲浒苔(57.4) 浒苔(42.6)	曲浒苔(61.2) 浒苔(38.8)	曲浒苔(100)
2013-01	曲浒苔(42.3) 浒苔(57.7)	曲浒苔(56.8) 浒苔(43.2)	浒苔(100)	浒苔(100)	曲浒苔(49.3) 浒苔(50.7)	曲浒苔(62.1) 浒苔(37.9)
2013-02	浒苔(100)	曲浒苔(33.6) 浒苔(66.4)	曲浒苔(45.6) 浒苔(54.4)	曲浒苔(35.8) 浒苔(64.2)	浒苔(100)	浒苔(100)
2013-03	浒苔(100)	浒苔(100)	曲浒苔(28.9) 浒苔(77.1)	浒苔(100)	曲浒苔(22.9) 浒苔(71.1)	浒苔(100)
2013-04	浒苔(100)	曲浒苔(17.4) 浒苔(82.6)	曲浒苔(14.5) 浒苔(85.5)	浒苔(100)	浒苔(100)	浒苔(100)

3 讨论

3.1 绿藻显微繁殖体的分布及其影响因素

浒苔能以包括有性生殖、无性生殖和营养生殖在内的7种方式繁殖^[17-19]。石莼属等绿藻主要有配子和孢子两种有性生殖方式,雌雄配子体分别产生的雌雄配子有2根鞭毛,具有趋光性,而孢子体产生的孢子或中性游孢子有4根鞭毛,无趋光性^[17]。张华伟等^[20]在对绿潮漂浮浒苔繁殖特性的研究中发现每平方厘米藻体能够产生大约 5.35×10^6 个游孢子或 1.07×10^7 个配子。一株成熟藻体25%左右的部分能够放散生殖细胞,产生约 1.15×10^7 个游孢子或 2.31×10^7 个配子。浒苔强大的繁殖能力是引起绿潮暴发的主要原因之一。

RICHARD^[21]研究表明,绿藻的游孢子和合子等在海水剧烈运动的条件下更容易释放。其生殖细胞可以随水流而传播,但传播距离会受到一定限制,导致繁殖体集中分布在绿藻较多的海域。田晓玲等^[22]认为江苏如东沿海岸基有大量绿藻附着。因此,如东沿海岸基附近会分布大量绿藻显微繁殖体。方松等^[14]调查发现南黄海绿藻显微繁殖体空间分布特征主要表现为近岸高、远岸低,高值区主要分布在紫菜养殖海域。本文也调查发现如东近岸紫菜养殖海域明显高于其他紫菜养殖海域。结合本课题组2012年12月至2013年4月调查江苏紫菜养殖筏架绿藻生物量资料,如东近岸海域紫菜养殖筏架上绿藻生物量低于竹根沙和东沙紫菜养殖海域。因此,推测如东沿海岸基附近绿藻显微繁殖体对如东近岸紫菜养殖海域繁殖体数量起到补充作用,但这仍需

要进一步的研究确定。

调查结果可以看出,绿藻显微繁殖体广泛分布在江苏紫菜养殖海域且显微繁殖体数量从2012年12月至2013年4月呈现逐渐上升趋势。调查期间,紫菜养殖筏架上始终存在大量绿藻^[23]。浒苔释放孢子对盐度、海水温度和酸碱度的适应范围分别为12~40、15~35℃、6~10,最适范围分别为28~40、20~35℃、8~9^[24]。调查期间海水温度范围为4.62~9.86℃。综上所述,2012年12月至2013年4月份江苏紫菜养殖海域海水温度不在浒苔释放孢子的温度范围内,但江苏紫菜养殖海域仍有绿藻显微繁殖体存在,并呈现上升的趋势。说明在自然海域条件下,绿藻浒苔在海水温度为4.62~9.86℃范围内仍能释放孢子。调查海域无机氮和无机磷含量分别为22.86~54.29 μmol/L和0.39~0.61 μmol/L,可以为固着在紫菜筏架上绿藻的生长和繁殖提供充足的N、P营养盐^[25-26]。调查海域盐度和酸碱度范围分别为29.15~30.39和8.03~8.11。盐度、酸碱度和营养盐在调查期间都处于适宜的范围内^[24],对该调查海域绿藻显微繁殖体数量影响作用较小。因此,温度是影响该调查海域绿藻繁殖体数量的主要环境因素。

3.2 紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体种类与绿潮之间的关系

我国黄海绿潮的优势种为浒苔^[27]。江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体种类组成为曲浒苔和浒苔。HAN等^[23]对2012年江苏紫菜养殖筏架绿藻进行ITS和5S rDNA间隔序列分子检测发现,江苏紫菜养殖筏架上浒苔和曲浒苔在整个生长季节中均有分布。我们在2010、2011年对启

东、如东、大丰、射阳等海区监测早期绿潮暴发时,均发现最早出现漂浮的绿藻是扁浒苔,随后出现曲浒苔、缘管浒苔,最后出现浒苔,然后浒苔种群迅速扩大形成大规模绿潮^[27]。自从2012年以后,以上各海区最早漂浮绿潮藻则直接为浒苔。2013年2-4月,江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体优势种为浒苔。2013年4月,江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体数量达到1 049 ind/L。大量绿藻显微繁殖体在环境条件适宜的情况下可以迅速萌发并生长成为漂浮藻体^[12]。由此推测,江苏紫菜养殖海域存在的大量绿藻显微繁殖体可能为绿潮藻的大规模暴发提供了种子库。

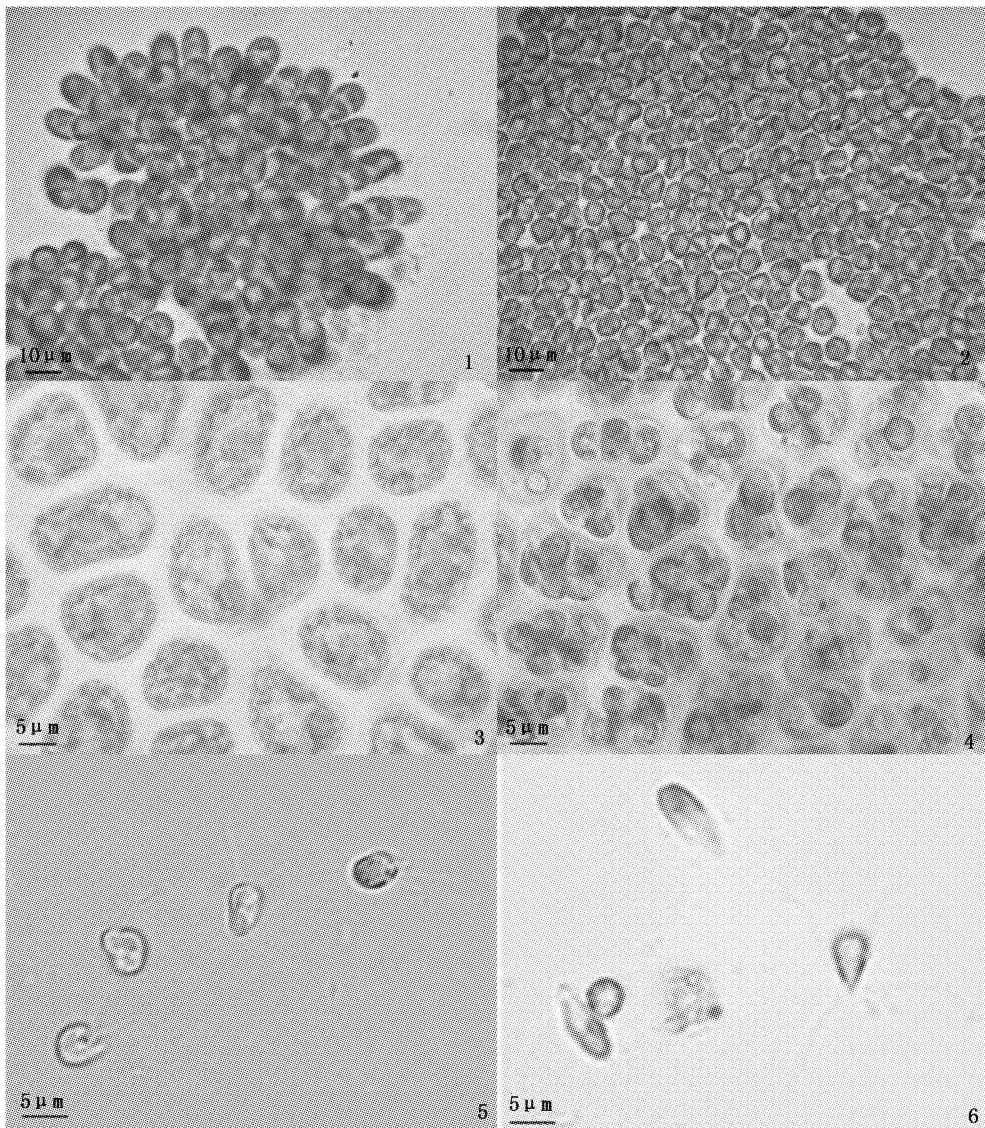
3.3 紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体的越冬能力

江苏紫菜养殖海域在整个冬季均有绿藻显微繁殖体存在。2013年1月海水温度最低约为4.62℃。此时江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体平均密度约为70 ind/L。2012年12月和2013年2月调查海域绿藻显微繁殖体平均密度分别为56 ind/L和472 ind/L。实验室模拟生态实验也表明,绿藻显微繁殖体在低温环境中可以存活3~4个月^[28]。LIU等^[13]研究发现绿藻显微繁殖体可以在江苏辐射沙洲底泥中越冬。底泥中的绿藻显微繁殖体在海水搅动下,可以重新悬浮起来,成为海水中的显微繁殖体。浒苔游孢子在正常条件下浮游时间最长为12 h,并且需要附着在基质上才能萌发^[29]。我们调查发现江苏紫菜养殖海域绿藻显微繁殖体数量随着时间不断增加。因此,我们推测紫菜养殖筏架设施上附着的绿藻来源于水体中的绿藻显微繁殖体,同时大量的养殖器材为这些繁殖体提供较为理想的附着基。随着藻体不断生长和成熟,紫菜筏架上生长的藻类会向外释放配子、孢子等生殖细胞,对该地区的绿藻繁殖体库起到不断补充的作用,使该海域的绿藻显微繁殖体能以更多的数量和机会度过冬季恶劣的环境。

参考文献:

- [1] SHIMADA S, HIRAOKA M, NABATA S, 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.
- [2] CHARLIER R H, MORAND P, FINKL C W, et al. Green tides on the Brittany coasts [J]. *Environmental Research*, 2007, 12(3): 52 - 59.
- [3] 徐兆礼, 叶属峰, 徐韧. 2008年中国浒苔灾害成因条件和过程推测[J]. *水产科学*, 2009, 33(3): 430 - 437.
XU Z L, YE S F, XU R. Possible conditions and process of the massive blooms of *Enteromorpha prolifera* in China during 2008 [J]. *Fisheries Science*, 2009, 33(3): 430 - 437.
- [4] ZHANG X, WANG H, MAO Y, et al. Somatic cells serve as a potential propagule bank of *Enteromorpha prolifera* forming a green tide in the Yellow Sea, China [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2010, 22(2): 173 - 180.
- [5] LIU D, KEESING J K, DONG Z, et al. Recurrence of the world's largest green-tide in 2009 in Yellow Sea, China: *Porphyra yezoensis* aquaculture rafts confirmed as nursery for macroalgal blooms [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(9): 1423 - 1432.
- [6] LIU D, KEESING J K, XING Q, et al. World's largest macroalgal bloom caused by expansion of seaweed aquaculture in China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2009, 58(6): 888 - 895.
- [7] KEESING J K, LIU D, FEARNES P, et al. Inter- and intra-annual patterns of *Ulva prolifera* green tides in the Yellow Sea during 2007 - 2009, their origin and relationship to the expansion of coastal seaweed aquaculture in China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(6): 1169 - 1182.
- [8] HU C, LI D, CHEN C, et al. On the recurrent *Ulva prolifera* blooms in the Yellow Sea and East China Sea [J]. *Journal of Geophysical Research*, 2010, 115(C5): 1029.
- [9] ZHANG X, XU D, MAO Y, et al. Settlement of vegetative fragments of *Ulva prolifera* confirmed as an important seed source for succession of a large-scale green tide bloom [J]. *Limnology and Oceanography*, 2011, 56(1): 233.
- [10] 邹定辉, 夏建荣. 海藻有性繁殖生态学研究进展 [J]. *生态学报*, 2004, 24(12): 2870 - 2877.
ZOU D H, XIA J R. Studies progresses of sexual reproductive ecology in seaweeds [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(12): 2870 - 2877.
- [11] 陈群芳, 何培民, 冯子慧. 漂浮绿潮藻浒苔孢子/配子的繁殖过程 [J]. *中国水产科学*, 2011, 18(5): 1069 - 1076.
CHEN Q F, HE P M, FENG Z H. Reproduction of spores/gametes of floating green tide algae *Ulva prolifera* [J]. *Journal of Fisheries Science of China*, 2011, 18(5): 1069 - 1076.
- [12] SANTELICES B, HOFFMANN A J, AEDO D, et al. A bank of microscopic forms on disturbed boulders and stones in tide pools [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1995, 129: 215 - 218.
- [13] LIU F, PANG S J, ZHAO X B, et al. Quantitative, molecular and growth analyses of *Ulva* microscopic propagules in the coastal sediment of Jiangsu Province where green tides initially occurred [J]. *Marine Environmental Research*, 2012, 74: 56 - 63.
- [14] 方松, 王宗灵, 李艳, 等. 南黄海及长江口附近海域绿潮暴发前期微观繁殖体的动态变化 [J]. *海洋学报*, 2012,

- 04:147-154.
- FANG S, WANG Z L, LI Y, et al. The dynamics of micro-propagules before the Green tide outbreak in the Southern Huanghai Sea and Changjiang River Estuary area[J]. *Acta oceanologica sinica*, 2012, 34(4): 147-154.
- [15] GB/T 12763—1991, 海洋调查规范[J]. 北京:中国标准化出版社, 2011.
- GB/T 12763—1991, Specification of Oceanographic Investigation [J]. Beijing: China Standardizations Press, 2011.
- [16] SHIMADA S, YOKOYAMA N, ARAI A, et al. Phylogeography of the genus *Ulva* (*Ulvothlyceae*, *Chlorophyta*), with special reference to the Japanese freshwater and brackish taxa[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2008, 20: 979-989.
- [17] 王晓坤, 马家海, 叶道才, 等. 浒苔(*Enteromorpha prolifera*)生活史的初步研究[J]. *海洋通报*, 2007, 26(5): 112-116.
- WANG X K, MA J H, YE D C, et al. Preliminary study on the life History of *Enteromorpha prolifera*[J]. *Marine Science Bulletin*, 2007, 26(5): 112-116.
- [18] 钱树本, 刘东艳, 孙军. 海藻学[M]. 青岛:中国海洋大学出版社, 2005.
- QIAN S B, LIU D Y, SUN J. *Marine phycology* [M]. Qingdao: Ocean University of China Press, 2005.
- [19] LIN A, SHEN S, WANG J, et al. Reproduction diversity of *Enteromorpha prolifera* [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, 50(5): 622-629.
- [20] 张华伟, 马家海, 胡翔, 等. 绿潮漂浮浒苔繁殖特性的研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(4): 600-606.
- ZHANG H W, MA J H, HU X, et al. Reproductive characteristics of the floating algae in green tide[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(4): 600-606.
- [21] RICHARD G. The role of water motion in algal reproduction [M]. Orono: University of marine, 2001.
- [22] 田晓玲, 霍元子, 陈丽平, 等. 江苏如东近海绿潮藻分子检测与类群演替分[J]. *科学通报*, 2011, 56(4/5): 309-317.
- TIAN X L, HUO Y Z, CHEN L P, et al. Molecular detection and analysis of green seaweeds from Rudong coasts in Jiangsu Province[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2011, 56(4/5): 309-317.
- [23] HAN W, CHEN L P, ZHANG J H, et al. Seasonal variation of dominant free-floating and attached *Ulva* species in Rudong coastal area, China[J]. *Harmful Algae*, 2013, 28: 46-54.
- [24] 王建伟, 阎斌伦, 林阿朋, 等. 浒苔(*Enteromorpha prolifera*)生长及孢子释放的生态因子研究[J]. *海洋通报*, 2007, 26(2): 60-65.
- WANG J W, YAN B L, LIN E P, et al. Ecological Factor Research on the Growth and Induction of Spores Release in *Enteromorpha Prolifera* (*Chlorophyta*) [J]. *Marine Science Bulletin*, 2007, 26(2): 60-65.
- [25] 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 Marine*. 2001, 44: 327-333.
- [26] HUO Y, ZHANG J, CHEN L P, et al. Green algae blooms caused by *Ulva prolifera* in the southern Yellow Sea: Identification of the original bloom location and evaluation of biological processes occurring during the early northward floating period [J]. *Limnol Oceanogr*, 2013, 58(6): 2206-2218.
- [27] 陈丽平, 何培民. 黄海绿潮藻分子鉴定与类群演替[D]. 上海:上海海洋大学, 2012.
- CHEN L P, HE P M. Molecular identification, species composition and population development of green tide algae in the Yellow Sea[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012.
- [28] 刘峰. 黄海绿潮的成因以及绿潮浒苔的生理生态学和分子系统学研究[D]. 青岛:中国科学院研究生院(海洋研究所), 2010.
- LIU F. The causes of green tides in the Yellow Sea, and phylogenetic analysis of the bloom forming alga, *Ulva prolifera* [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010.
- [29] 朱明, 刘兆普, 徐军田, 等. 浒苔孢子放散与附着萌发特性及其干出适应性的初步研究[J]. *海洋科学*, 2011, 35(7): 1-6.
- ZHU M, LIU Z P, XU J T, et al. The release, adhesion and germination of spores of *Enteromorpha prolifera* and its adaptation to different desiccation conditions [J]. *Marine Science*, 2011, 35(7): 1-6.



图版 绿藻显微繁殖体

Plate *Ulva* microscopic propagules

1 - 2. 绿藻生殖细胞群聚; 3 - 4. 绿藻生殖细胞囊; 5. 两鞭毛的配; 6. 四鞭毛的孢子.

1 - 2. green algae germ cell clustering; 3 - 4. green algae germ cell cytoysts; 5. biflagellate gametes; 6. quadriflagellate spores.

The distribution features of *Ulva* microscopic propagules in Jiangsu *Porphyra* aquaculture regions before the outbreak of the green tides in Yellow Sea

HAN Hongbin^{1,2}, HUA Liang^{1,2}, HUO Yuanzi^{1,2}, ZHANG Jianheng^{1,2}, WU Hailong^{1,2}, WEI Zhangliang^{1,2}, CHEN Qunfang^{1,2}, HE Peimin^{1,2}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The distribution features of *Ulva* microscopic propagules in Jiangsu *Porphyra* aquaculture regions from Dec. 2012 to Apr. 2013 were investigated. The result showed that in each month the high density zone of the *Ulva* microscopic propagules in investigated areas were widely distributed in Rudong inshore *Porphyra* aquaculture regions. In the investigated areas, the temporal distribution features of the number of *Ulva* microscopic propagules presented the trend of rising gradually. From Dec. 2012 to Apr. 2013 the average number of *Ulva* propagules in investigated areas was 56, 71, 471, 550 and 1 049 ind/L. By using ITS sequence and 5S rDNA intervening sequence analysis and construction of phylogenetic tree, the molecular results showed that compositions of microscopic propagules were *Ulva prolifera* and *Ulva flexuosa*. By analyzing the species composition of *Ulva* microscopic propagules, we found that 2 – 4 months before the breakout of green tide *Ulva* microscopic propagules of the dominant species in the Yellow Sea green tide became the dominant species in Jiangsu *Porphyra* aquaculture regions. A large number of *Ulva* microscopic propagules could germinate rapidly with the rising of temperature at the late spring. Therefore we speculated that a large number of *Ulva* microscopic propagules that existed in *Porphyra* aquaculture regions in Jiangsu would provide seed bank for Yellow Sea green tides.

Key words: Yellow Sea; *Porphyra* aquaculture regions; green tides; *Ulva prolifera*; microscopic propagules