

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2014.02.002

广东部分岛屿紫菜物种研究

邓银银^{1,2}, 陆勤勤³, 陈伟洲⁴, 张涛², 田翠翠^{1,2}, 朱建一²

(1. 苏州大学基础医学与生物科学学院, 江苏 苏州 215123; 2. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500;
3. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007; 4. 汕头大学海洋生物研究所, 广东 汕头 515063)

摘要: 为了解广东沿海紫菜物种自然资源现状及物种间的亲缘关系, 于2012年冬季对广东3个岛屿进行调查, 并对采集样品进行形态、细胞学以及基于 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列的系统学研究。结果显示, 12月平屿岛优势种有坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*)、长紫菜 (*P. dentata*) 和皱紫菜 (*P. crispata*); 外伶仃岛、下川岛为皱紫菜和多枝紫菜 (*P. ramosissima*); 3个岛屿的紫菜属于暖温性的刺缘组紫菜, 染色体均为 $n=5$, 其中多枝紫菜染色体为首次观察报道。系统学结果显示, 平屿岛皱紫菜与坛紫菜亲缘关系最近, 与多枝紫菜之间的关系最远; 外伶仃岛、下川岛皱紫菜与平屿岛皱紫菜的相似度远低于与多枝紫菜种间的系数。研究扩增了皱紫菜的 *nrSSU* 序列和多枝紫菜的 *rbcL*、*nrSSU* 序列, 为紫菜的系统学研究提供了基础资料。

关键词: 紫菜; 染色体; *rbcL*; *nrSSU*

中图分类号: S 932.7

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2014)02-0011-07

Study of *Porphyra* species from some islands of Guangdong Province

DENG Yinyin^{1,2}, LU Qinqin³, CHEN Weizhou⁴, ZHANG Tao², TIAN Cuicui^{1,2}, ZHU Jianyi²

(1. School of Biology and Basic Medical Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2. Department of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China; 3. Institute of Oceanology and Marine Fisheries, Nantong 226007, China; 4. Marine Biology Institute, Shantou University, Shantou 515063, China)

Abstract: To understand the natural distribution and genetic relationship of *Porphyra* species in coastal areas of Guangdong Province, we collected samples from Pingyu Island, Wailingding Island and Xiachuan Island of Guangdong Province in December, 2012 for DNA sequence analysis of the large subunit of ribulose-1-5-bisphosphoate carboxylase/oxygenase enzyme (*rbcL*) and nuclear SSU ribosomal RNA (*nrSSU*) gene as well as cytological observations. The results show that *P. haitanensis*, *P. dentata* and *P. crispata* were the dominate species from Pingyu Island, while *P. crispata* and *P. ramosissima* were the dominate species from Wailingding and Xiachuan Islands. All the four species, which were all warm-temperature species and belonged to *Porphyra*, had five chromosomes ($n=5$) with undulated margin. The chromosome of *P. ramosissima* was firstly reported within *Porphyra* spp. Based on the analysis of DNA sequences of *rbcL* and *nrSSU*, *P. crispata* from Wailingding and Xiachuan Islands had much closer relationship with *P. crispata* from Pingyu Island, while *P. crispata* from Pingyu Island had the closest genetic relationship with *P. haitanensis* and the farthest relationship with *P. ramosissima*. The *rbcL* and *nrSSU* genes of *P. ramosissima* and the *nrSSU* genes of *P. crispata* had been firstly amplified in this study, which provides basic data for the systematics of *Porphyra*.

Key words: *Porphyra*; chromosome; *rbcL*; *nrSSU*

收稿日期: 2013-10-29; 修回日期: 2014-01-08

资助项目: 国家自然科学基金项目(31272664); 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2012AA10A406-6); 海洋公益性行业专项(201105023)

作者简介: 邓银银(1988-), 女, 硕士研究生, 从事海藻生物学研究。E-mail: dyysilver@gmail.com

通信作者: 朱建一(1953-), 女, 教授, 从事海藻育种与栽培研究。E-mail: zhujianyi66@163.com

紫菜(*Porphyra*)是生长在沿海潮间带的重要经济红藻^[1],其独特的生物学特性在海藻研究领域倍受关注。近年来由于人类活动特别是过度采集的影响以及自然海况与环境的变化,导致海岛、礁岩周边海域生物多样性降低,自然资源急剧减少。广东沿海岛屿多,海藻分布丰富。关于广东紫菜物种的分布,《中国经济海藻志》^[2]中曾指出广东沿海有3个常见物种,即圆紫菜(*P. suborbiculata*)、长紫菜(*P. dentata*)和皱紫菜(*P. crispata*)。1978年曾呈奎和张德瑞^[3]报道在广东上川岛及海丰县等地发现特有的新物种广东紫菜(*P. guangdongensis*)。1982年潘国瑛和王永川^[4]在广东潮阳海门采集并报道了新物种多枝紫菜(*P. ramosissima*)。根据《中国海藻志》^[5]及文献记载,广东沿岸紫菜物种已记载的有长紫菜、圆紫菜、皱紫菜、广东紫菜、多枝紫菜和坛紫菜(*P. haitanensis*)。

传统的紫菜物种分类主要依据形态学和细胞学特征,如藻体形态、细胞层数、体长、厚度、边缘细胞、雌雄生殖细胞分布、染色体数目等^[5]。随着近年来分子生物学技术逐渐应用于红藻的分类系统学研究中,特别是质体基因 *rbcL* 与核基因 *nrSSU* 序列相结合的分析方法已广泛用于红藻的亲缘关系和系统学研究^[6]。为了解广东沿海紫菜物种自然资源现状及物种之间的亲缘关系,笔者于2012年冬季对广东3个沿岸岛屿进行了紫菜物种资源调查,对采集样品进行形态、细胞学分类以及基于 *rbcL* 和 *nrSSU* 基因序列的系统学研究,以期对紫菜物种的研究及保护保存提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 采集与地点

2012年12月在广东平屿岛、外伶仃岛和下川岛部分海区进行紫菜物种采集调查,详细采集位点见图1。样品采集尽量保持藻体完整,编号分装作好采集记录。材料阴干后,低温保存带回实验室。

采集岛屿概况为:1)平屿岛(23°20'N, 117°04'E),在南澳县勒门列岛西部,北距南澳岛7 km,面积0.03 km²,目前为无人居住的海洋生态自然保护区;2)外伶仃岛(22°06'N, 114°02'E),位于珠海市东区,地处珠江入海口,面积4.23 km²;3)下川岛(21°39'N, 112°36'E),地处广东台山市的西南部,位于珠江口西侧,海岸线长约346 km。

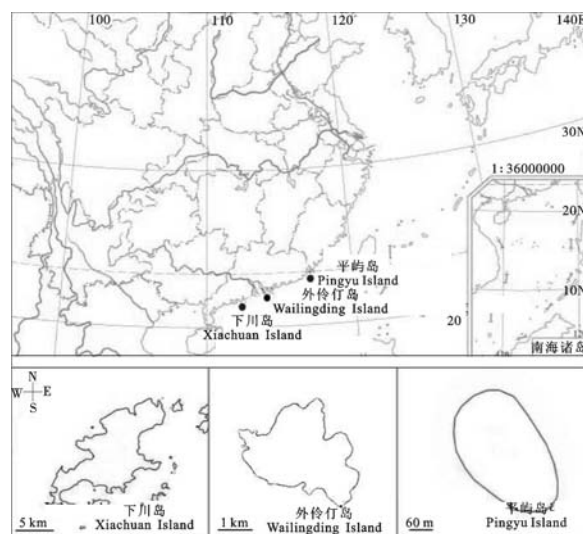


图1 紫菜采集点信息

Fig. 1 Sampling sites of *Porphyra* in Guangdong Province

1.2 细胞学观察

根据紫菜物种分类描述,依据藻体形态、颜色、质地等外部特征对同一地点采集的紫菜样品进行初步归类。挑取优势物种中典型性状的藻体进行细胞学观察,包括藻体长、宽(30株重复)、厚度和细胞内腔高的测量;使用Nikon 90i显微镜观察和记录藻体生殖细胞分布、藻体边缘形态等;将藻体组织用固定液[V(无水乙醇):V(冰醋酸)=3:1]固定,用WITTMANN(1965)醋酸苏木精法对细胞分裂中期染色体进行观察与计数。综合观察测定结果进一步作分类鉴定。

1.3 基于 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列的系统学研究

挑取经形态和细胞学观察分类鉴定的紫菜物种,用改良的SDS法制备样品DNA。检测各样品DNA的浓度和纯度,于-20℃保存备用。扩增紫菜物种 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列的引物分别参照BROOM等^[7]和MÜLLER等^[8]。PCR反应体系和扩增条件经优化后,产物送至上海生工公司进行双向测序。

利用NCBI上的Blast工具对测序结果进行同源性分析,确定为紫菜物种的目的基因片段。用DNAMAN进行正反向序列的拼接,完整的序列在MEGA 5.1中计算相应的同源相似度,并分别用NJ法(neighbor-joining)和ME法(minimum-evolution)构建聚类树。软件用自举检验值估计系统树分支节点的置信度,自举重复数为1000。构建聚类树用Genbank下载的紫菜 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列作为对照,物种及序列号分别为坛紫菜(AB118585; AB013181)、皱紫菜(GQ427201, 仅

有 *rbcL* 序列)、长紫菜(HQ687520; HQ687588)、条斑紫菜(*P. yezoensis*) (HQ728197; HQ728189)、甘紫菜(*P. tenera*) (HQ687543; HQ687577) 和圆紫菜(HQ728201; HQ728193)。所用的外类群为红毛菜(*Bangia atropurpurea*) (AF169330; AF169341) 或肉色星丝藻(*Erythrotrichia carnea*) (AF087118; AJ880417)。

2 结果

2.1 物种与细胞学观察

该次调查采集的紫菜样品依据形态及细胞学分类观察, 优势种群中确认到种的分别为平屿岛的坛紫菜、长紫菜、皱紫菜, 外伶仃岛和下川岛的皱紫菜、多枝紫菜, 这些优势种紫菜的形态和细胞学观察描述为:

坛紫菜。平屿岛坛紫菜叶片多为披针形(图 2-a-1), 呈暗绿紫色, 采集月份藻体长 7.5 ~ 17.5 cm, 宽 1.1 ~ 3.6 cm。叶片基部边缘由 1 ~ 3 个细胞组成的锯齿状突起(图 2-a-2)。藻体单层细胞, 厚度为 50.28 ~ 68.07 μm , 细胞内腔高 17.21 ~ 36.34 μm (图 2-a-3)。藻体雌雄异体, 雌雄生殖细胞均分布在藻体稍部至中上部边缘。随机测定藻体性比, 雄株: 雌株: 未定性(无明显雌雄生殖细胞) = 58: 56: 41, 雌雄比例接近 1:1, 该次采集测定的样品中未见雌雄同体的藻体。藻体营养细胞的染色体为 $n=5$ (图 2-a-4)。

长紫菜。平屿岛长紫菜呈长叶形或披针形(图 2-b-1), 淡黄褐色或淡紫红色, 藻体长 7.1 ~ 21.7 cm, 宽 0.6 ~ 1.6 cm。叶片边缘具 1 ~ 3 个细胞组成的锯齿, 近基部的锯齿较紧密(图 2-b-2)藻体单层细胞, 厚度约为 40.61 ~ 57.87 μm , 细胞内腔高 16.33 ~ 34.08 μm (图 2-b-3)。雌雄异体, 精子囊器和果孢子囊分布于藻体边缘至藻体中上部。随机测定藻体性比, 雄株: 雌株: 未定性 = 98: 84: 84, 雌雄株比例为 1: 1.17, 该次采集季节长紫菜雄株略多于雌株。藻体营养细胞的染色体为 $n=5$ (图 2-b-4)。

皱紫菜。平屿岛采集的皱紫菜藻体圆形或肾脏形, 呈典型的花簇状(图 2-c-1), 藻体长 2.4 ~ 6.2 cm, 宽 1.9 ~ 5.7 cm。叶片基部边缘有稀疏的锯齿, 多为 1 个细胞的小锯齿(图 2-c-2)。藻体单层细胞, 厚度为 49.54 ~ 61.26 μm , 细胞内腔高 16.35 ~ 35.28 μm (图 2-c-3)。藻体雌雄同体, 果孢子囊与精子囊

器呈区域性分布在藻体边缘。藻体营养细胞的染色体为 $n=5$ (图 2-c-4)。外伶仃岛、下川岛采集的皱紫菜外形与平屿岛皱紫菜相似(图 2-d-1、2-e-1), 但藻体稍小。叶片边缘同样有锯齿细胞(图 2-d-2、图 2-e-2)。藻体厚度较平屿岛皱紫菜薄, 分别为 35.16 ~ 49.56 μm 、39.12 ~ 53.25 μm , 细胞内腔高 14.64 ~ 24.28 μm 、18.56 ~ 31.23 μm (图 2-d-3、图 2-e-3)。藻体雌雄同体, 藻体营养细胞的染色体为 $n=5$ (图 2-d-4、图 2-e-4)。

多枝紫菜。外伶仃岛多枝紫菜呈掌状, 并分出 2 片以上的分枝或小叶片, 有的小叶片还可作二回分枝(图 2-f-1), 藻体长 3.1 ~ 6.8 cm, 宽 1.3 ~ 5.4 cm。叶片边缘具 1 ~ 3 个细胞组成的锯齿状突起, 近基部的突起小而紧密(图 2-f-2)。藻体厚度为 32.09 ~ 43.77 μm , 细胞内腔高 12.95 ~ 25.58 μm (图 2-f-3)。藻体雌雄同体, 精子囊一般分布于藻体的边缘, 果孢子囊分布于分枝的内侧, 呈区域分布。藻体营养细胞的染色体 $n=5$ (图 2-f-4)。下川岛多枝紫菜形态与外伶仃岛多枝紫菜相似(图 2-g-1), 藻体长 2.3 ~ 4.6 cm, 宽 0.7 ~ 2.7 cm。叶片基部边缘有锯齿状突起(图 2-g-2)。藻体单层细胞, 叶片厚度为 30.47 ~ 39.96 μm , 细胞内腔高 11.99 ~ 20.81 μm (图 2-g-3)。生殖细胞分布性状、染色体数目与外伶仃岛多枝紫菜相同(图 2-g-4)。

2.2 基于 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列的系统学研究

通过 PCR 扩增 7 个紫菜的 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列, 分别获得了 1 500 bp 和 1 800 bp 左右特异性专一的目的产物。测序结果经 Blast 比对, 确定为紫菜的 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列。

根据 MAGE 5.1 计算 7 个紫菜样品之间的同源性系数, 结果显示(表 1), 在紫菜的 *rbcL* 序列中, 7 个紫菜的同源相似度为 89.4% ~ 99.6%。其中平屿岛皱紫菜、坛紫菜与长紫菜之间的同源性较高(96.2% ~ 99.4%); 外伶仃岛与下川岛的皱紫菜、多枝紫菜 4 个样品之间的同源性系数为 98.7% ~ 99.6%; 平屿岛 3 种紫菜与外伶仃岛、下川岛 2 种紫菜同源相似度较低(89.4% ~ 90.9%)。在紫菜 *nrSSU* 序列中平屿岛皱紫菜、坛紫菜和长紫菜三者之间的同源系数差异最小(97.9% ~ 99.2%); 外伶仃岛、下川岛的皱紫菜、多枝紫菜之间的同源相似度为 97.1% ~ 98.7%; 平屿岛 3 种紫菜与外伶仃岛、下川岛 2 种紫菜的同源系数稍低(93.8% ~ 95.2%)。

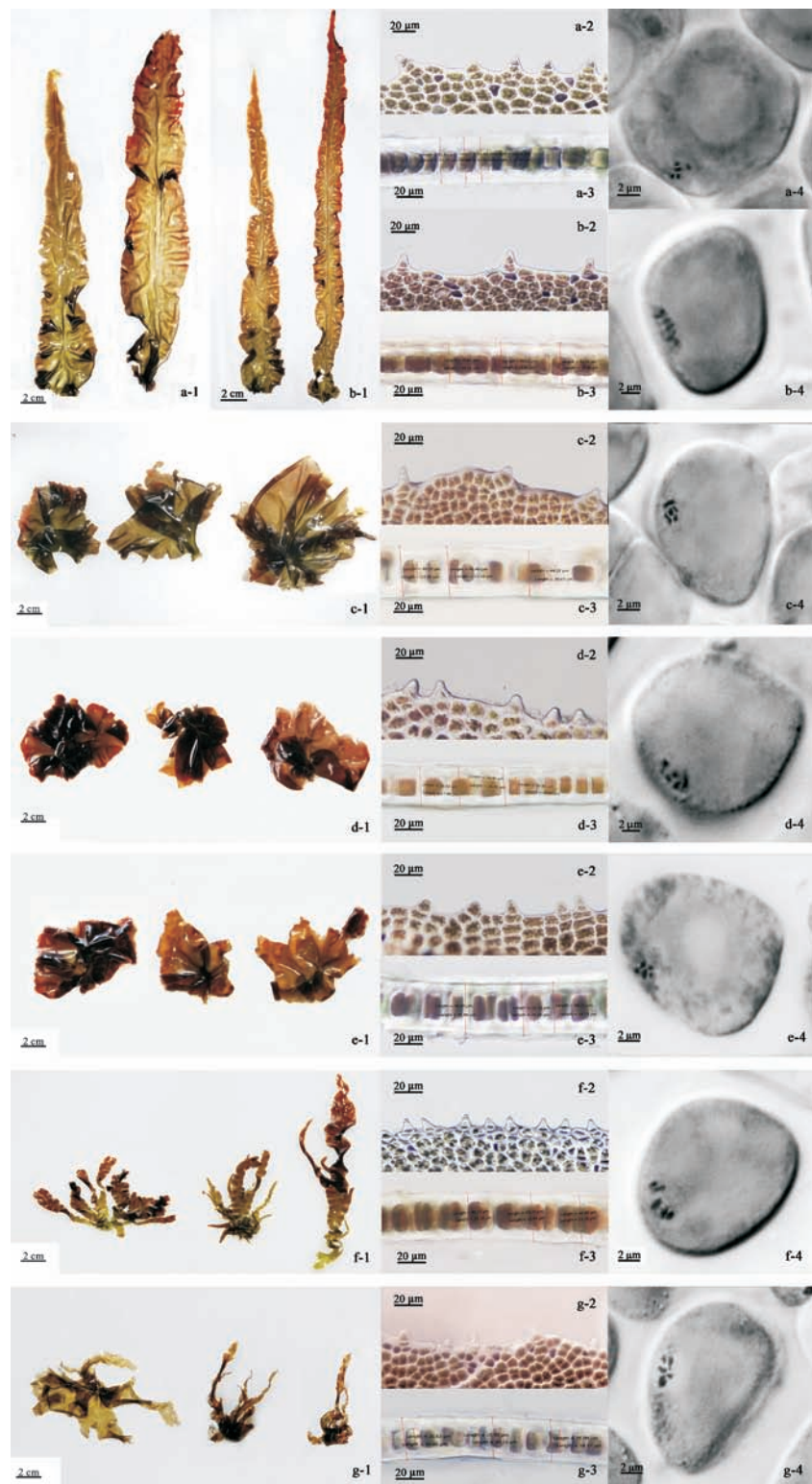


图2 7个紫菜的形态与细胞学观察

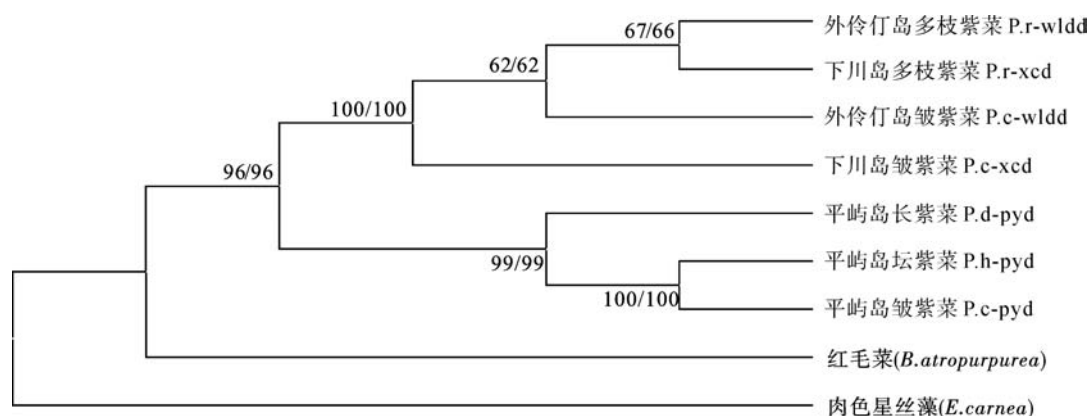
a. 平屿岛坛紫菜; b. 平屿岛长紫菜; c. 平屿岛皱紫菜; d. 外伶仃岛皱紫菜; e. 下川岛皱紫菜; f. 外伶仃岛多枝紫菜;
g. 下川岛多枝紫菜; 1. 形态; 2. 藻体边缘; 3. 横切; 4. 营养细胞染色体

Fig. 2 Morphology and cytological observations of seven *Porphyra* species

a. *P. t-pyd* (*P. haitanensis* from Pingyu Island); b. *P. d-pyd* (*P. dentata* from Pingyu Island); c. *P. c-pyd* (*P. crispata* from Pingyu Island);
d. *P. c-wldd* (*P. crispata* from Waidingling Island); e. *P. c-xcd* (*P. crispata* from Xiachuan Island); f. *P. r-wldd* (*P. ramosissima* from Waidingling
Island); g. *P. r-xcd* (*P. ramosissima* from Xiachuan Island); 1. morphology; 2. margin; 3. cross-section; 4. chromosome of thallus cells

表 1 7 个紫菜 *rbcL*(左下方)和 *nrSSU*(右上方)序列的同源系数Tab. 1 Homology values of *rbcL* (lower matrix) and *nrSSU* (upper matrix) data for seven *Porphyra* species %

样品 sample	平屿岛 坛紫菜 P. h-pyd	平屿岛 坛紫菜 P. c-pyd	外伶仃岛 皱紫菜 P. c-wldd	下川岛 皱紫菜 P. c-xcd	平屿岛 长紫菜 P. d-pyd	外伶仃岛 多枝紫菜 P. r-wldd	下川岛 多枝紫菜 P. r-xcd
平屿岛坛紫菜 P. h-pyd		99.2	94.0	95.1	97.9	94.6	94.2
平屿岛皱紫菜 P. c-pyd	99.4		94.1	95.2	98.0	94.9	94.1
外伶仃岛皱紫菜 P. c-wldd	89.9	90.2		97.7	93.7	97.2	97.1
下川岛皱紫菜 P. c-xcd	89.4	89.8	98.9		94.9	98.7	98.0
平屿岛长紫菜 P. d-pyd	96.3	96.2	90.7	90.5		94.8	93.8
外伶仃岛多枝紫菜 P. r-wldd	90.4	90.3	99.4	98.7	90.9		98.1
下川岛多枝紫菜 P. r-xcd	90.4	90.5	99.3	99.1	90.9	99.6	

图 3 7 个紫菜 *rbcL* 序列构建的简单聚类树

分支上的数值分别代表 NJ 法和 ME 法的置信度值

Fig. 3 Phylogram of seven *Porphyra* species calculated from *rbcL* data

Numbers above internal branches indicate bootstrap values by NJ and ME methods.

根据 7 个紫菜样品 *rbcL* 序列构建的聚类树(图 3), 可分为 2 大分支。一支为下川岛、外伶仃岛的皱紫菜和多枝紫菜, 4 个紫菜以 100% 的置信度聚类在一起, 其中外伶仃岛、下川岛的多枝紫菜聚类在一支; 另一个分支为平屿岛的坛紫菜、皱紫菜和长紫菜, 其中, 坛紫菜和皱紫菜聚类在一起(100%), 长紫菜以 99% 的置信度作为其姐妹分支。在紫菜 *nrSSU* 序列构建的聚类树中(图 4), 7 个紫菜分为 3 个分支。第一个分支与 *rbcL* 序列建立的聚类树相似; 第二分支里平屿岛的坛紫菜和皱紫菜以 97%、96% 的置信度聚类在一起; 长紫菜则位于 7 个紫菜的基部(100%)。

在与 Genbank 下载的紫菜 *rbcL* 和 *nrSSU* 序列构建的聚类树中(图 5), 可分 3 个分支。第一分支下川岛和外伶仃岛的皱紫菜、多枝紫菜聚类在一起

(100%), 与条斑紫菜、甘紫菜形成姐妹分支; 第二分支中 2 个长紫菜以 98% 的置信度聚类在一起, 坛紫菜、皱紫菜再以 98% 置信度作为姐妹分支; 圆紫菜则独立的分为第三分支, 位于进化树的基部。

3 讨论

3.1 物种性质与分布

通过对采集藻体的形态及细胞学观察分类显示, 广东省冬季(12 月)这 3 个沿岸岛屿有 4 个紫菜优势种, 即坛紫菜、长紫菜、皱紫菜和多枝紫菜。细胞学观察显示, 4 个物种的染色体均为 $n = 5$ 。坛紫菜的染色体观察与 TSENG 和 SUN^[9]、ZHOU 等^[10]的研究结果一致, 长紫菜、皱紫菜染色体数与陈伟洲等^[11]报道结果相同, 而多枝紫菜

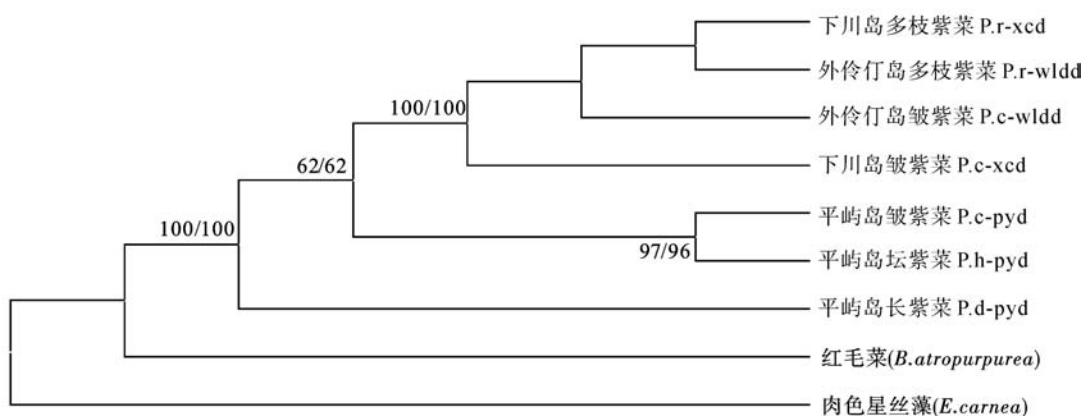
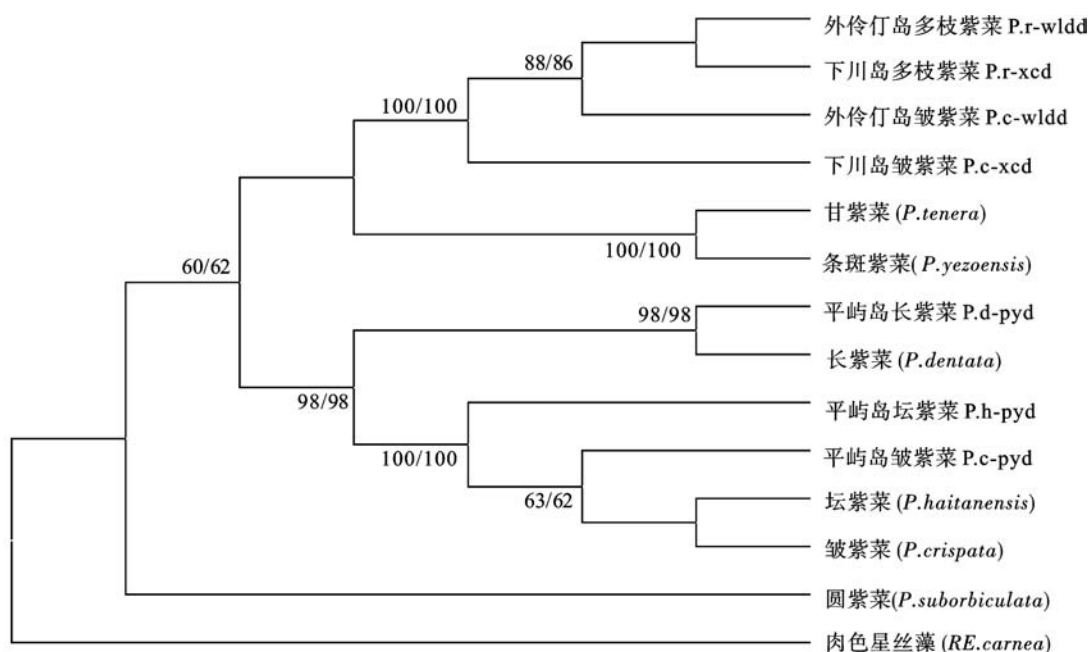


图4 7个紫菜 nrSSU 序列构建的简单聚类树

Fig. 4 Phylogram of seven species of *Porphyra* calculated from nrSSU data图5 紫菜 *rbcL* 和 nrSSU 序列构建的简单聚类树Fig. 5 Phylogram of *Porphyra* calculated from *rbcL* and nrSSU data

的染色体数目为首次提出。在紫菜属分类中,曾呈奎和张德瑞^[12]将藻体营养细胞单层且具一个色素体的真紫菜亚属根据藻体边缘有无刺状突起,又分为全缘紫菜组(section edentata)、刺缘紫菜组(section dentata)和边缘紫菜组(section marginata)。张德瑞和郑宝福^[13]在研究中国紫菜及地理分布时指出,刺缘紫菜组的种类主要分布于北太平洋西部,特别是暖温带或亚热带地区。该次采集的坛紫菜、皱紫菜、长紫菜和多枝紫菜为真紫菜亚属,且藻体边缘均具有刺缘,从而证实了广东沿海分布的紫菜物种性质是属暖温性的刺缘组紫菜,染色体均为 $n = 5$ 。

从调查采集区域、现场和样品的观察分析来看,这3个岛屿地理分布的纬度相差不大($23^{\circ}20'N$, $117^{\circ}04'E$ 至 $21^{\circ}39'N$, $112^{\circ}36'E$),但紫菜物种分布略有差异。这一季节平屿岛优势种为坛紫菜、长紫菜,习见种为皱紫菜。长紫菜分布在潮间带的高潮位,坛紫菜潮位居中,皱紫菜分布的潮位最低;外伶仃岛和下川岛地理距离相对较近,优势种均为皱紫菜和多枝紫菜。在潮间带分布上,这2种紫菜分布大体相同,位于中、低潮位。平屿岛为无人居住的海洋生态自然保护区,调查结果也显示该岛紫菜物种的数量及分布丰度远优于外伶仃岛和下川岛,这一情况应该引起重视,采取必要的措施及

时保护保存中国的紫菜物种自然资源。

3.2 紫菜 *rbcL* 与 nrSSU 序列的系统学研究

了解紫菜的分类学地位, 确立其在分子系统学中与其他藻类的亲缘关系和进化地位是深入研究紫菜及开展保护保存紫菜物种必不可少的基础研究工作。目前 NCBI 中关于皱紫菜的研究只有杨立恩等^[14]报道过 *rbcL* 序列, 多枝紫菜的分子序列尚未见报道。文章首次扩增了皱紫菜的 nrSSU 序列、多枝紫菜的 *rbcL* 和 nrSSU 序列, 为紫菜物种的系统学研究提供了基础资料。

平屿岛皱紫菜与坛紫菜具有不同的藻体外形等表型特征, 但亲缘关系最近, 分别为 99.4% 和 99.2% (*rbcL* 和 nrSSU), 在进化树中两者聚类在同一分支里, 此结果与杨立恩等^[14]报道一致; 平屿岛皱紫菜与多枝紫菜之间的遗传距离最远, 相似度约为 90.4% 和 94.5%。外伶仃岛和下川岛皱紫菜经形态、细胞学观察鉴定均为皱紫菜, 但与平屿岛皱紫菜的相似度仅为 90% 和 94.6%, 远低于与多枝紫菜之间的同源系数(99.1% 和 97.8%)。平屿岛皱紫菜与外伶仃岛、下川岛皱紫菜的系统学结果显示了种内的遗传距离大于种间的距离, 笔者认为可能是地理环境的差异造成这种现象。外伶仃岛与下川岛地理距离相对较近, 而平屿岛为无人居住的生态自然保护区, 由于缺少人为影响, 环境也不同。在 ISSR、RAPD 和 AFLP 等其他分子技术中, 研究者也发现紫菜种内的遗传距离比种间大的结果^[15-17]。为此, SONG 等^[15]和 NIWA 等^[18]提出了种间基因渗透或交流的观点, 而多数学者认为是不同的地理环境或地理位置的阻隔造成了紫菜的遗传差异^[16,19-20]。紫菜的系统学尚需进一步深入研究, 才能取得适合紫菜特性的科学结论。

参考文献:

- [1] 许璞, 张学成, 王素娟, 等. 中国主要经济海藻的繁殖与发育[M]. 北京: 中国农业出版社, 2013: 101-102.
- [2] 曾呈奎, 张德瑞, 张峻甫, 等. 中国经济海藻志[M]. 北京: 科学出版社, 1962: 103-105.
- [3] 曾呈奎, 张德瑞. 中国两种新紫菜[J]. 海洋与湖沼, 1978, 9(1): 76-85.
- [4] 潘国瑛, 王永川. 我国紫菜属一新种——多枝紫菜[J]. 海洋与湖沼, 1982, 13(6): 544-548.
- [5] 郑宝福, 李钧. 中国海藻志[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 83-104.
- [6] SUTHERLAND J E, LINDSTROM S C, NELSON W A, et al. A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta)[J]. J Phycol, 2011, 47(5): 1131-1151.
- [7] BROOM J E S, NELSON W A, FARR T J, et al. Relationships of the *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) flora of the Falkland Islands: a molecular survey using *rbcL* and nrSSU sequence data[J]. Aust Syst Bot, 2010, 23(1): 27-37.
- [8] MÜLLER K M, SHEATH R G, VIS M L, et al. Biogeography and systematics of *Bangia* (Bangiales, Rhodophyta) based on the Rubisco spacer, *rbcL* gene and 18S rRNA gene sequences and morphometric analysis. I. North America[J]. Phycologia, 1998, 37(3): 195-207.
- [9] TSENG C K, SUN A S. Studies on the alternation of the nuclear phases and chromosome numbers in the life history of some species of *Porphyra* from China[J]. Botanica Marina, 1989, 32(1): 1-8.
- [10] ZHOU W, ZHU J Y, SHEN S D, et al. Observations on the division characterization of diploid nuclear in *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. J Appl Phycol, 2008, 20(5): 991-999.
- [11] 陈伟洲, 朱建一, 杜虹, 等. 南澳岛紫菜初步研究[C]//中国藻类学会第十五次学术讨论会摘要集. 珠海: 中国海洋湖沼学会藻类学分会, 2009: 198.
- [12] 曾呈奎, 张德瑞. 边紫菜及其系统学地位[J]. 植物学报, 1958, 7(1): 15-27.
- [13] 张德瑞, 郑宝福. 中国的紫菜及其地理分布[J]. 海洋与湖沼, 1962, 4(3/4): 183-188.
- [14] 杨立恩, 金杰, 朱建一, 等. 紫菜(*Porphyra*)叶状体 *rbcL* 基因分类学分析[J]. 常熟理工学院学报: 自然科学, 2009, 23(8): 66-71.
- [15] SONG L S, DUAN D L, LI X H, et al. Use of RAPD for detecting and identifying *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Chin J Oceanol Limnol, 1998, 16(3): 237-242.
- [16] 徐涤, 宋林生, 秦松, 等. 五个紫菜品系间遗传差异的 RAPD 分析[J]. 高技术通讯, 2001, 12(1): 1-3, 8.
- [17] 孙雪, 骆其君, 杨锐, 等. 紫菜(*Porphyra*)遗传差异的 ISSR 分析[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(2): 141-145.
- [18] NIWA K, IIDA S, KATO A, et al. Genetic diversity and introgression in two cultivated species (*Porphyra yezoensis* and *Porphyra tenera*) and closely related wild species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. J Phycol, 2009, 45(2): 493-502.
- [19] VAN OPPEN M J H, KLERK H, DE GRAAF M, et al. Assessing the limits of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in seaweed biogeography[J]. J Phycol, 1996, 32(3): 433-444.
- [20] 杨锐, 刘必谦, 骆其君, 等. 利用扩增片段长度多态性(AFLP)研究坛紫菜的遗传变异[J]. 高技术通讯, 2002, 12(1): 83-86.