

# 山东半岛大叶藻的抽样调查与鉴定

刘坤<sup>1,2</sup> 刘福利<sup>2</sup> 王飞久<sup>2\*</sup> 孙修涛<sup>2</sup> 汪文俊<sup>2</sup>  
丁昌玲<sup>2</sup> 梁洲瑞<sup>2</sup> 李涛<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

(<sup>2</sup>农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘要** 2011年8~10月对山东半岛大叶藻进行了调查研究,并对山东半岛大叶藻进行了分类鉴定。结果显示,山东半岛主要存在3种大叶藻科(Zosteraceae)种类,分别是大叶藻属 *Zostera* 的大叶藻 *Zostera marina* L.、矮大叶藻 *Zostera japonica* Ascherson & Graebner 以及虾形藻属 *Phyllospadix* 的红须虾形藻 *Phyllospadix iwatensis* Makino。其中,大叶藻分布广泛,莱州湾、俚岛、小石岛、楮岛、汇泉湾等地均发现有大叶藻存在,莱州湾地区大叶藻呈斑状分布,汇泉湾呈零星分布,俚岛、小石岛、楮岛地区呈片状分布;矮大叶藻分布较少,莱州湾地区呈斑状分布,广饶地区零星分布;红须虾形藻仅发现于青岛石老人海水浴场,呈斑状分布。调查还发现,山东半岛近海沿岸大叶藻海草场都存在不同程度的退化和破坏,除俚岛、小石岛、楮岛的大叶藻呈片状分布以外,其他地区的大叶藻均呈斑状分布或者零星分布。日照东港地区的海草场更是破坏严重,且本次调查范围内未发现大叶藻存在。

**关键词** 大叶藻 海草 ITS 分布调查 种类鉴定

**中图分类号** Q949;S917 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2012)06-0099-07

## Survey and identification of Zosteraceae along Shandong Peninsula coast

LIU Kun<sup>1,2</sup> LIU Fu-li<sup>2</sup> WANG Fei-jiu<sup>2\*</sup> SUN Xiu-tao<sup>2</sup> WANG Wen-jun<sup>2</sup>  
DING Chang-ling<sup>2</sup> LIANG Zhou-ru<sup>2</sup> LI Tao<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Aquatic and Life Sciences, Shanghai Ocean University, 201306)

(<sup>2</sup>Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** In order to further investigate the species and distribution of Zosteraceae along the coast of Shandong Peninsula, ecological survey was performed during August~October, 2011. Based on morphological characteristics, ITS sequences were analyzed to identify the Zosteraceae samples. Three species were found during the survey, namely, *Zostera marina* L., *Zostera japonica* Ascherson & Graebner, and *Phyllospadix iwatensis* Makino. Among them, *Z. marina* distributed most widely but in different patterns in each place: mottled in Laizhou Bay, sporadic in Huiquan Bay, and in large stretches along the coast of Lidao, Xiaoshidao and Chudao. *Z. japonica* was found in less biomass, showing a mottled distribution in Laizhou Bay and a

国家公益性行业(农业)科研专项(201003068)资助

\* 通讯作者。E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn

收稿日期:2012-03-28;接受日期:2012-04-25

作者简介:刘坤(1987-),男,硕士研究生,主要从事海藻生物学研究。E-mail:hiyard@126.com, Tel:18253276101

sporadic distribution in Guangrao County. *P. iwatensis* was found only in Shilaoren Beach in Qingdao with a patchy distribution. The survey also revealed that seagrass beds of Zosteraceae along Shandong Peninsula coast have been damaged and have degenerated in various degrees. Along the coast of Lidao, Xiaoshidao, and Chudao, Zosteraceae distributed in large stretches, while in other surveyed areas it showed a patchy or sporadic distribution. Specifically, seagrass beds of Zosteraceae along Rizhao coast seemed to be completely destroyed, and none Zosteraceae species was found.

**KEY WORDS** Zosteraceae Seagrass ITS Distribution survey  
Species identification

海草 Seagrass 是生活于热带和温带海域浅水中的单子叶植物,能完全生长于沉水环境,具有完整的根、茎、叶系统(中国湿地编辑委员会 1999)。海草在浅海地区以形成广阔草场的方式对世界范围内近海海洋生态系统做出贡献,其中大叶藻就是典型的代表(叶春江等 2002)。中国大叶藻科 Zosteraceae 包含大叶藻属 *Zostera* 和虾形藻属 *Phyllospadix* 两个属,大叶藻属包括大叶藻 *Zostera marina* L.、丛生大叶藻 *Zostera caespitosa* Miki、具茎大叶藻 *Zostera caulescens* Miki、宽叶大叶藻 *Zostera asiatica* Miki、矮大叶藻 *Zostera japonica* Ascherson & Graebner; 虾形藻属 *Phyllospadix* 包括黑须虾形藻 *Phyllospadix japonicus* Makino 和红须虾形藻 *Phyllospadix iwatensis* Makino。在我国主要分布于辽宁、河北、山东,厦门、福建、广东、广西、台湾(范航清等 2009)。目前,对大叶藻科的研究主要集中在形态解剖学、生态学与生理学等领域(叶春江等 2002)。而对大叶藻资源的调查及其分类与分布的研究较少。近年来,山东半岛大叶藻资源的调查研究也鲜见报道。最早在 20 世纪 80 年代初,杨宗岱等(1981)对山东沿海海草的分布、生产力及其结构与功能进行了初步探讨;2008 年,郭 栋等(2010)对山东近海沿岸大叶藻种类进行了初步调查,并发现 4 种大叶藻种类。之后几年对山东半岛海草资源的调查研究未见报道。近几十年来,由于自然环境的变迁和人为因素的影响,世界范围内大叶藻的资源都处于不断衰退之中,对大叶藻地理分布与分类的调查研究工作就有其必要性和紧迫性。为进一步了解当前山东半岛海域大叶藻的种类与分布情况,本研究分别选取山东半岛沿岸海域 8 个地点对大叶藻的生物量和分布情况做了调查研究,并在形态特征鉴定的基础上,基于 ITS 序列对采集的大叶藻样品进行了分类鉴定和序列特征分析,以期为进一步开展大叶藻资源调查研究、海草场修复提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 大叶藻的调查与采集

本研究于 2011 年 8~10 月间,选取山东半岛近海沿岸有代表性的 8 个地点对大叶藻进行调查并采样(图 1)。采样时植株间至少间隔 2m,每个群落采集 22 株植株。有些采样地点大叶藻衰退严重,适当减少了采集植株数。日照东港地区大叶藻衰退严重,调查未发现大叶藻群落。采集好的样品用海水初步清洗,装入封口袋,做好标记带回实验室。

### 1.2 大叶藻种类形态特征鉴定

对采集的样品进行整理、拍照并制作蜡叶标本。将所有样本按照形态特征分组,然后参照《中国植物志》、《中国海草植物》以及相关文献,对每组样品进行形态特征鉴定。鉴定结果分组编号。

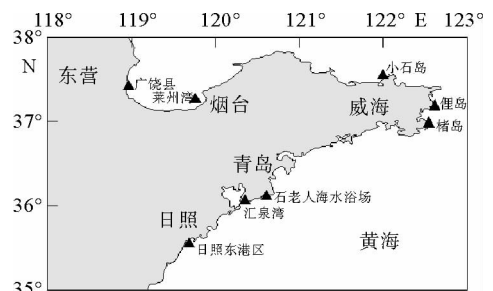


图 1 大叶藻调查地理位置

Fig. 1 Geographical locations of the Zosteraceae survey

### 1.3 大叶藻种类分子鉴定

#### 1.3.1 基因组 DNA 提取

根据形态鉴定的结果,每个种类随机选取 8 个样品,提取 DNA。DNA 提取的试剂盒选用 TIANGEN 植物基因组 DNA 提取试剂盒(TIANGEN,北京)。

#### 1.3.2 PCR 扩增

引物设计参考相关文献(李 渊等 2011),由上海 Sangon 公司合成。扩增在 Life Express TC-96/G/H (b) PCR 仪上进行。反应体系:10×Buffer 5  $\mu$ l,dNTP 4  $\mu$ l,ddH<sub>2</sub>O 33.25  $\mu$ l,Taq 酶 0.25  $\mu$ l,DNA 模版 1  $\mu$ l,正反向引物各 1  $\mu$ l,总体积 50  $\mu$ l。反应条件:94℃ 4 min,94℃ 40 s,56℃ 40 s,72℃ 30s,40 个循环,72℃ 10 min。

#### 1.3.3 DNA 序列测定

PCR 扩增产物用 1%琼脂糖凝胶电泳检测,在 UVP 凝胶成像系统下成像保存。PCR 扩增产物以 PCR 引物为测序引物进行单向测序,由上海 Sangon 公司完成。测得序列处理后提交至 GenBank。

#### 1.3.4 序列数据分析

供试的 ITS 序列在 GenBank 数据库中 Blast 检测比对,得到与其最相似序列的物种名、登陆编号及相似率。用 MEGA 软件对测得的 ITS 序列和从 GenBank 中通过 Blast 检索获得的参考序列进行系统发育分析,并构建进化树,用 Kimura2-parameter 模式计算遗传距离,所有对位排列结果中的空位或缺失数据做完全删除处理,进化距离分析采用近邻法(NJ,Neighbor-joining)。系统树的每个分支的统计学显著性分析以自展法进行检验,重复次数为 1 000 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 山东半岛大叶藻种类形态鉴定

根据所有样本的形态特征,将样本分成 3 组,并分别编号 Y、S、X,其形态特征分别描述如下:

Y 组,根茎匍匐,直径 2~4 mm,节间生有 1 枚先出叶和多数须根。先出叶仅具鞘而无叶片,长 2~5 mm,膜质,半透明,呈闭合的套管状,顶端钝,腹侧稍凹陷,具 3 脉。营养枝短,具叶 3~8 枚;叶鞘膜质,管状,长 5~15 mm,后期呈不规则的撕裂状;叶耳长约 1 mm,极尖;鞘内小鳞片 2 或 4,线形,长可达 50 cm 以上,宽 3~6 mm,全缘,先端钝圆或稍具突尖;初级叶脉 5~7 条。

S 组,根茎粗短,匍匐,直径约 5 mm,每节具叶 1 枚,纤根两条。植株基部常为一丛缠结的红棕色毛状纤维所包围,长可达 10 cm;茎短缩,节间长 4~5 mm。叶互生,具鞘;叶鞘长可达 25 cm,叶耳钝尖,叶舌短,新月形,5 脉;叶片线形,长 100~150 cm,宽 1.25~4.5 mm,下部全缘,上部边缘具连续的鳍刺状齿,后部分脱落形成断续的细齿,叶端钝;初级叶脉 5 条。

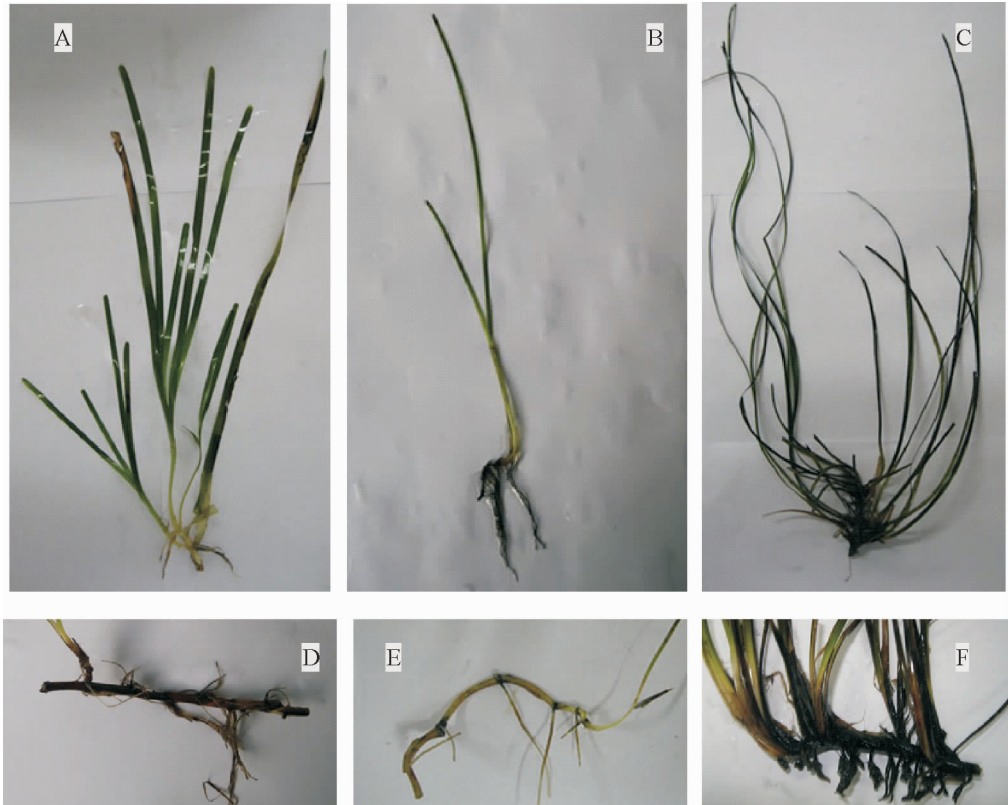
X 组,具发达的根状茎,根茎匍匐,直径 0.5~1.5 mm,节间长 5~30 mm,节生 1 枚先出叶和两条纤细根。先出叶仅具鞘而无叶片,长约 2 cm,边缘稍叠压,抱茎,呈半透明的膜质,无叶耳。营养枝 2~4 枚;叶稍长 2~10 cm,边缘膜质,叶耳钝圆,长 0.3~0.5 mm,鞘内小鳞片 2,披针形,长约 1 mm,叶舌明显;叶片线形,深绿色,长 5~35 cm,宽 1~2 mm,先端钝或微凹,近基部略窄,略分叉;初级脉 3 条,平行,中脉与顶端增宽或分叉,侧脉边缘生,与中脉在叶片顶端连接,脉间附束 3~5 条,次级脉间隔 1~4mm,与初级脉垂直排列。

根据各组样本的形态特征,并参照《中国植物志》、《中国海藻植物》以及相关文献,初步将 3 组样本(编号 Y、S、X)分别鉴定为大叶藻、红须虾形藻、矮叶大叶藻。

### 2.2 山东半岛大叶藻种类分子鉴定

基于形态特征的分类鉴定不仅受样本生长环境、生长时期等客观因素的影响,而且形态性状的选取和判断受主观因素的影响也较大(李海波等 2007)。故此,基于 ITS 序列的鉴定技术,作者对所采集大叶藻样本进

一步进行分子鉴定,以期弥补形态鉴定的局限性。分别从3组(编号 Y、S、X)大叶藻样本中随机选取8株植株,测定其 ITS 序列并进行比对分析。结果发现,3组大叶藻组内植株间的 ITS 序列相似率高达99%以上,甚至100%,说明组内样本同属大叶藻一个种。将每组 ITS 序列在 GenBank 数据库中进行 Blast 比对分析,结果发现 Y、S、X 组样本分别是大叶藻、矮叶大叶藻、红须虾形藻(表1),与基于形态特征的鉴定结果相同。



A. 大叶藻植株的形态; B. 矮大叶藻植株的形态; C. 红须虾形藻植株的形态;

D. 大叶藻的地下茎及根; E. 矮大叶藻的地下茎及根; F. 红须虾形藻的地下茎及根

A. External morphology of *Z. marina* L.; B. External morphology of *Z. japonica* Ascherson & Graebner;

C. External morphology of *P. iwatensis* Makino; D. Underground rhizomes of *Z. marina* L.;

E. Underground rhizomes of *Z. japonica* Ascherson & Graebner; F. Underground rhizomes of *P. iwatensis* Makino

图2 3种大叶藻科植株的形态、地下根茎

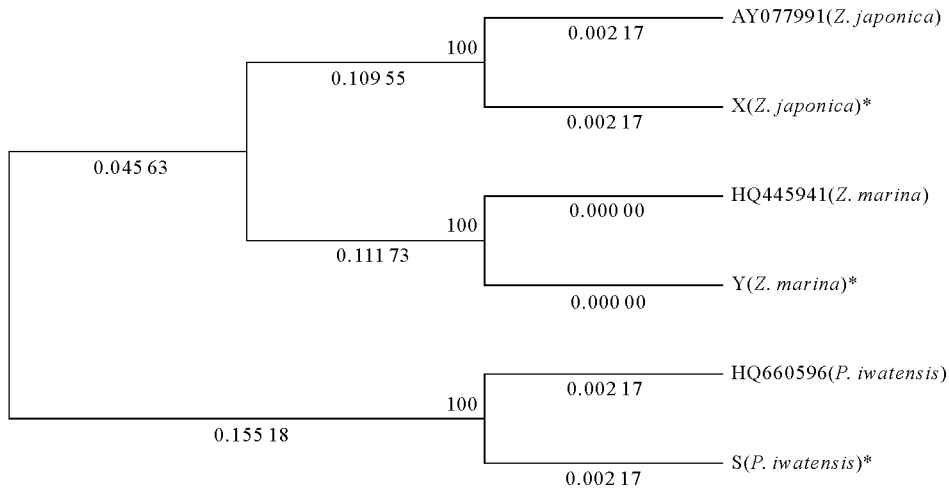
Fig. 2 External morphology and underground rhizomes of three Zosteraceae species

表1 与大叶藻 ITS 序列最相似的物种

Table 1 Species from the GenBank database with the highest sequence similarity to the three Zosteraceae species

编号 Number	形态鉴定结果 Morphological identification result	GenBank 最相似物种 Most similar species in GenBank	登录号 Accession number	相似率 Similarity(%)
Y	大叶藻 <i>Z. marina</i> L.	<i>Z. marina</i> L.	HQ445941	99
S	红须虾形藻 <i>P. iwatensis</i> Makino	<i>P. iwatensis</i> Makino	HQ660596	99
X	矮大叶藻 <i>Z. japonica</i> Ascherson & Graebner	<i>Z. japonica</i> Ascherson & Graebner	AY077991	99

另外,对3组大叶藻的 ITS 序列连同从 GenBank 下载的3个最近缘物种的 ITS 序列,共6个序列一起做系统发育树,结果发现,Y、S、X 3组大叶藻几乎与各自从 GenBank 检索比对得到的最相似物种以100% bootstrap 值聚在一起,结合表2显示的相似率,提示这3组大叶藻应该各自与其最相近的物种为同一种大叶藻。



注:标星号的样本序列为作者所测,其余样品序列来自 GenBank

Note: The samples marked with asterisks were examined in this study, and others are obtained from GenBank

图 3 基于大叶藻 ITS 序列构建的 NJ 系统发育树

Fig. 3 Neighbor-joining phylogenetic tree based on rDNA ITS region sequences of Zosteraceae

### 2.3 山东半岛各地大叶藻种类、生物量及生境特征

鉴于形态学和 ITS 序列的鉴定结果,在山东半岛共发现 3 种大叶藻科海草,分别是大叶藻属的大叶藻和矮大叶藻,以及虾形藻属的红须虾形藻(表 2)。其中,大叶藻分布广泛,莱州湾、俚岛、小石岛、楮岛、汇泉湾等地均发现有大叶藻存在,莱州湾地区大叶藻呈斑状分布,汇泉湾呈零星分布,俚岛、小石岛、楮岛地区呈片状分布;矮大叶藻分布较少,莱州湾地区呈斑状分布,广饶地区零星分布;红须虾形藻仅在青岛石老人海水浴场有发现,呈斑状分布。调查还发现山东半岛近海沿岸大叶藻海草场都存在不同程度的退化和破坏,除俚岛、小石岛、楮岛的大叶藻呈片状分布以外,其他地区的大叶藻均呈斑状分布或者零星分布。日照地区的海草场更是完全破坏,本次调查未发现有大叶藻存在。调查还发现,大叶藻与矮大叶藻偏好泥与泥沙底质,而红须虾形藻偏好砂砾与砾石底质(图 4),其地下根茎生长形态差异是适应不同底质的结果。因此,对大叶藻海草床进行修复时,评估修复海域的底质类型并选择相应修复物种,能够增加移植的成活率。

表 2 山东半岛采样地点大叶藻种类分布情况

Table 2 Species and distribution of Zosteraceae along the coast of Shandong Peninsula

调查地点 Investigation sites	大叶藻分布种类 Species	分布特点 Distribution
东营市广饶县 Guangrao County, Dongying City	矮大叶藻 <i>Z. japonica</i> Ascherson & Graebner	零星分布 Sporadic distribution
莱州湾 Laizhou Bay	大叶藻 <i>Z. marina</i> 矮大叶藻 <i>Z. japonica</i> Ascherson & Graebner	斑状分布,两种海草间生 Spotted distribution, two species
俚岛 Lidao	大叶藻 <i>Z. marina</i> L.	片状分布 Patchy distribution
小石岛 Xiashidao	大叶藻 <i>Z. marina</i> L.	片状分布 Patchy distribution
楮岛 Chudao	大叶藻 <i>Z. marina</i> L.	片状分布 Patchy distribution
汇泉湾 Huiquan Bay in Qingdao	大叶藻 <i>Z. marina</i> L.	零星分布 Sporadic distribution
青岛石老人海水浴场 Shilaoren Beach in Qingdao	红须虾形藻 <i>P. iwatensis</i> Makino	斑状分布 Spotted distribution

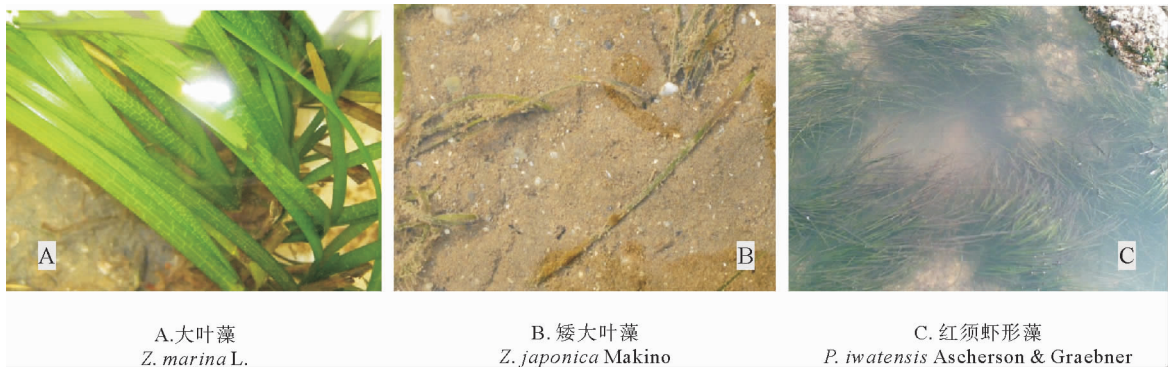


图4 3种大叶藻的生境

Fig. 4 Habitat of three Zosteraceae species

### 3 讨论

大叶藻是北半球沿海分布最广泛的一类海草,通常在沿海或岛屿周围较浅的水域中形成广大的群落(den Hartog 1970),是近海生态系统中重要的组成部分。大叶藻的存在不仅为其他生物提供了栖息场所和食物来源(Phillips 1984; Thayer *et al.* 1984),还有利于海底基质的稳定和缓冲潮流对海底沉积物的扰动(Fonseca *et al.* 1985)。而且大叶藻对环境中的重金属离子的循环也有一定的作用。在我国大叶藻的分布十分广泛,山东、河北、辽宁沿海均可以见到。据1982年调查结果,仅莱州湾芙蓉岛附近就有大约1334hm<sup>2</sup>的大叶藻种群分布(中国海湾志编写委员会 1991),2002年叶春江等(2002)前去调查取样时却很少。据报道,山东省历史上分布有5种海草,2008年郭栋等(2010)的调查只发现4种海草。本次调查只发现3种。十几年前,青岛沿岸大叶藻多见于水下1~2m,现在只在水下4~5m才能发现(叶春江等 2002),说明我国大叶藻群体的种类和生物量都处于衰退之中。

导致大叶藻自然资源衰退的原因目前尚不完全清楚。研究表明,人为因素影响和自然变迁可能是主要原因(王亚民等 2010)。本次调查中,日照东港地区大叶藻海草床几乎完全退化,究其原因主要是近几年日照近海沿岸大规模地进行围海造田开挖养殖池,将原本丰富的大叶藻资源破坏殆尽。东营广饶县也同样存在近海沿岸开发过度的情况,莱州湾地区斑状分布的大叶藻与矮大叶藻也面临着正在开挖的海参池的威胁;青岛汇泉湾地区大叶藻零星分布,主要由于近岸入海的污染物大量增加,阻碍了海草正常的光合作用,造成海草床无法正常延续;俚岛、小石岛、楮岛地区大叶藻连片分布,生物量较大,但是渔民在围网捕鱼、打桩等生产活动中会践踏海草,影响其生长;另外,浅海海域生物多样性的破坏、气候变化和外来物种都对海草床的生长产生了影响(王亚民等 2010)。大叶藻资源保护已经是迫在眉睫,针对当前大叶藻资源的实际状况以及造成大叶藻资源衰退的自然和人为因素,作者建议:其一,可考虑在一些重要海草分布区划定海草床生态系统自然保护区,严格控制人类活动对海草床的影响,从而使海草自然地恢复到受损之前的状态;其二,可在适宜的海底播种大叶藻或移植采自健康大叶藻群体的植株,从而达到恢复海草场的目的。

总之,本研究对山东半岛大叶藻群体进行了抽样调查,并结合形态特征和分子特征对大叶藻样本进行了鉴定和分类,初步摸清了山东半岛沿岸大叶藻的种类、分布、生物量以及生境特征。发现山东半岛大叶藻草场正处于衰退的不利状况中。结合实际调查资料,初步分析了大叶藻海草场退化的原因,并提出了相应的建议 and 对策,可为下一步大叶藻资源保护、海草场建设和近海生态环境修复提供参考。

### 参 考 文 献

- 中国海湾志编写委员会. 1991. 中国海湾志(第三分册). 北京:海洋出版社,71  
 中国湿地编辑委员会. 1999. 中国湿地植被. 北京:科学出版社,252~263

- 王亚民,郭冬青. 2010. 我国海草场保护与恢复对策建议. 中国水产, 10:24~25
- 叶春江,赵可夫. 2002. 高等植物大叶藻研究进展及其对海洋沉水生活的适应. 植物学通报, 19(2):184~193
- 李 渊,孙典荣,李文涛,张沛东,江 鑫,郭 栋,高天翔. 2011. 基于 matK, rbcL 和 ITS 序列的 5 种大叶藻系统发育研究. 水产学报, 35(2):183~190
- 李海波,吴学谦,魏海龙,付立忠,吴庆其. 2007. 基于形态特征和 ITS 序列对 7 个鹅膏菌属菌株的分类鉴定, 菌物研究, 5(1):14~20
- 杨宗岱,吴宝铃. 1981. 中国海草场的分布、生产力及其结构与功能的初步探讨. 生态学报, 1(1):84~89
- 范航清,石雅君,邱广龙. 2009. 中国海草植物. 北京:海洋出版社, 6
- 郭 栋,张沛东,张秀梅,李文涛,张新军,原永党. 2010. 山东近海海域海草种类的初步调查研究. 海洋湖沼通报, 2:17~21
- den Hartog, C. 1970. The Seagrasses of the World. Amsterdam: Nort\_bolland Publishing Co, 265
- Fonseca, M. S., Kenworthy, W. J., Thayer, G. W., Heller, D. Y., and Cheap, K. M. 1985. Transplanting of the seagrass *Zostera marina* and *Halodule wrightii* for sediment stabilization and habit development on the east Coast of United States. US Army Corps of Engineers Tech Rep, E1\_85\_9: 49
- Phillips, R. C. 1984. The ecology of eelgrass meadows in the pacific northwest: a community profile. U S Fish Wild Serv. OBS 84/24, 85
- Thayer, G. W., Kenworthy, W. J., and Fonseca, M. F. 1984. The ecology of eel grass meadows of the Atlantic Coast; a community profile. U S Fish Wild Serv. FWS/OBS 84/02, 147

## 《渔业科学进展》编辑部声明

为扩大本刊及作者知识信息交流渠道,加强知识信息推广力度,本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在 CNKI 中国知网及其系列数据库产品中,以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。

该著作权使用费及相关稿酬,本刊均用于作者文章发表、出版、推广交流(含信息网络)以及赠送样刊之用途,不再另行向作者支付。凡作者向本刊提交文章发表之行为即视为同意我编辑部上述声明。

《渔业科学进展》编辑部

2012 年 12 月 20 日