

doi: 10.7541/2019.133

采自广东大亚湾水域的海链藻属一新种——扇形海链藻

郭晓慧 郭雅琼 李 扬

(华南师范大学生命科学学院, 广州市亚热带生物多样性与环境生物监测重点实验室,
广东省水产健康安全养殖重点实验室, 广州 510631)

摘要: 为澄清广东大亚湾水域海链藻属的物种多样性, 研究建立了它的单克隆培养株系。结合光镜和扫描电镜下的形态学特征, 以及基于核糖体大、小亚基序列的分子系统发育分析, 报道了中国海链藻属的1个新种, 即扇形海链藻 *Thalassiosira flabellata* sp. nov. X.H. Guo, Y.Q. Guo & Y. Li. 该种以短链状群体或单细胞生活, 壳面具有一圈壳缘支持突、一个中央支持突和一个壳缘唇形突。壳面孔纹束状排列, 是此种典型特征。此种与帕尔海链藻 *T. partheneia* 较为相似, 区别特征如下: 此种的壳面支持突和唇形突均具有外管, 而帕尔海链藻的突起没有外管, 只有内管; 其次, 此种的壳面较平, 而帕尔海链藻的壳面隆起呈鼓状; 第三, 此种的中央支持突具有3个围孔, 而帕尔海链藻具有4—5个围孔。

关键词: 海链藻属; 形态学; 分子系统学; 扇形海链藻

中图分类号: Q949.27

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2019)05-1132-07

海链藻属(*Thalassiosira* Cleve)物种是一类常见的海洋浮游硅藻^[1, 2]。该属物种多样性丰富, 目前已报道了270多个分类单位^[3]。海链藻个体微小, 壳面直径多在20 μm 以下, 是海洋微型浮游植物的重要组成部分, 有些还是近岸海域常见的藻华生物^[2, 4]。

突起(支持突fuloportula、唇形突rimoportula、闭合突occluded process)在海链藻的分类学中具有重要应用价值, 各类突起的数目、密度和排列方式是重要的分类学依据^[1, 2]。此外, 壳面孔纹排列方式、群体特征、壳缘是否具有肋纹结构、壳面观和环面观形状、硅质化程度、客套高度、环带特征、支持突基部围孔个数等特征, 在海链藻的分类学中也是重要的参考依据^[1, 2]。

海链藻属以往研究多集中于极地(北极水域)和温带地区(北大西洋水域)^[2, 5, 6], 近年研究发现该属在热带、亚热带水域也具有较高的物种多样性^[7], 先后报道了一些新记录种、新种和新变种, 如艾伦海链藻肋纹变种 *T. allenii* var. *striata*^[8] 和小字海链藻双卫变种 *T. minuscula* var. *bicustodis*^[9]、狭线形海链藻 *T. anguste-lineata*^[10] 和碟形海链藻 *T. mi-*

nicosmica^[10]、中华海链藻 *T. sinica*^[11] 等。目前我国已记录海链藻属物种50余个, 但与我国辽阔的近海海域而言, 多样性仍较为有限^[11]。为了明确海链藻属的物种多样性, 基于形态学和分子系统学数据, 本文报道了我国广东大亚湾水域海链藻属的一个新物种: 扇形海链藻 *Thalassiosira flabellata* sp. nov. X.H. Guo, Y.Q. Guo & Y. Li.

1 材料与方法

1.1 单克隆培养株系的建立

采集活体样品带回实验室, 在倒置显微镜下挑取目标藻细胞, 建立培养株系^[11]。本文于2015年3月对采自于广东大亚湾(22°41'52.4" N, 114° 34' 22.1"E)的活体样品进行藻株分离, 建立了6个扇形海链藻单克隆株系, 分别为: MC324、MC326、MC327、MC328、MC329和MC330。

1.2 形态学观察与分子系统学分析

吸取0.1 mL处于对数生长期的藻液, 滴于载玻片上并加盖盖玻片, 用光学显微镜(Olympus BX53)进行微分干涉(Differential interference contrast, DIC)

收稿日期: 2018-09-12; 修订日期: 2019-04-07

基金项目: 国家自然科学基金(31570205和31370235); 广州市科技计划项目(201607010370)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31570205, 31370235); Science and Technology Foundation of Guangzhou (201607010370)]

作者简介: 郭晓慧(1993—), 女, 山西运城人; 硕士研究生; 主要从事藻类学研究。E-mail: guoxiaohuizi@126.com

通信作者: 李扬, E-mail: liyang@scnu.edu.cn

观察^[11]。另外, 取对数生长期藻液1 mL, 酸化去除有机质后, 用蒸馏水水洗至中性。吸取适量酸化后的样品, 过滤至孔径3 μm 的Millipore滤膜上, 自然晾干后用碳导电胶贴于SEM样品铜台上, 溅射仪喷金后置于扫描电镜(Zeiss Ultra 55)下进行观察和拍照^[11]。

收集对数生长期的藻细胞, 提取总DNA。扩增核糖体小亚基编码基因(Small subunit ribosomal encoding gene, SSU)和大亚基编码基因(Large subunit ribosomal encoding gene, LSU)的D1-D3区的序列。使用BioEdit软件进行序列的比对和矩阵^[12], 用MrBayes 3.2构建贝叶斯系统树(Bayesian inference, BI)^[11]。

2 结果

2.1 基于形态学特征的初步鉴定

经过光镜和扫描电镜的观察, 发现本文建立的6个单克隆培养株系具有典型海链藻物种一个中央支持突、一圈壳缘支持突和一个壳缘唇形突的特征, 但支持突形状与位置、群体特征和壳面孔纹排列方式又区别于已报道的海链藻物种。

2.2 基于核糖体SSU和LSU序列的系统学分析

SSU rDNA系统发育树(图1)显示, 扇形海链藻与凹面海链藻*T. concaviuscula*、矮小短棘藻*Detonula pumila*聚集在一个小分支上, 并且具有较高的置信值(BPP>0.90)。它们与太平洋海链藻*T. pacifica*和夏眠海链藻*T. aestivalis*聚在一起形成一个独立的分支。扇形海链藻与凹面海链藻有25个碱基差异, 遗传距离为0.014; 与矮小短棘藻有39个碱基差异, 遗传距离为0.019; 与太平洋海链藻有41个碱基差异, 遗传距离为0.020; 与夏眠海链藻有41个碱基差异, 遗传距离为0.020。

而基于LSU rDNA的系统发育树则有所不同(图2), 扇形海链藻和三眼小盘藻*Minidiscus trioculatus* (Taylor) Hasle聚在一起, 然后与诺氏海链藻*T. nordenskiöldii*、极小海链藻*T. minima*和旋链海链藻*T. curviseriata*形成姐妹支(BPP>0.90)。扇形海链藻与三眼小盘藻有29个碱基差异, 遗传距离为0.045; 与诺氏海链藻有26个碱基差异, 遗传距离为0.041; 与极小海链藻有25个碱基差异, 遗传距离为0.034; 与旋链海链藻有31个碱基差异, 遗传距离为0.045。

2.3 新物种的确认

结合形态学和分子系统学数据, 支持本文所建立的6个株系为海链藻属一新种。

扇形海链藻 *Thalassiosira flabellata* X. H. Guo, Y. Q. Guo & Yang Li sp. nov. 图版 I

Description: Cells solitary or in short chains, rectangular in girdle views. Gourd-shaped chloroplasts. Valves circular and flat, 6—10 μm in diameter. Areolae arranged into fascicles, 39—49 in 10 μm . Normal areolae and tiny siliceous spines on valve mantle. A central fulcrum with short tube-like extension externally, surrounded by 3 satellite pores internally. A marginal ring of fulcrum keeping 2—3 areolae away from the valve margin, 4—7 in 10 μm , with 3 satellite pores internally. A rimopore within the marginal ring of fulcrum.

Holotype: Permanent slide of strain MC328 deposited at the Laboratory of phycology, College of Life Science, South China Normal University, China, catalog number PS37. Fixed samples of strain MC328 deposited in the same place, as F-MC328.

Type locality: Daya bay (22°41'52.4" N, 114°34'22.1"E), Guangdong Province, South China Sea, P. R. China.

Habitat: Marine, planktonic.

Etymology: The name "*flabellata*" represents the areolae pattern on the valve face.

Live strain: MC324 deposited in the Laboratory of Phycology, School of Life Science, South China Normal University, China.

叶状色素体多数, 分布于壳缘处(图版 I -a—b)。细胞可形成链状群体(图版 I -a), 也可单个生活(图版 I -b)。环面观呈四边形(图版 I -a), 贯壳轴2—3 μm ; 壳面观圆形(图版 I -b), 直径6—10 μm 。壳面孔纹束状排列(图版 I -c—d), 密度为10 μm 内39—49个。壳面中央处有1个支持突, 基部有3个围孔(图版 I -c—f), 并与1个中央大孔紧密相邻(图版 I -e—f), 中央支持突具有外管结构(图版 I -e)。壳面边缘有1圈支持突(图版 I -c—d), 基部有3个围孔(图版 I -i), 密度为10 μm 内4—7个。壳缘支持突外管呈圆柱形, 基部可见有1圈明显的硅质壁(图版 4-g)。有1个唇形突, 位于1圈壳缘支持突内, 紧邻(图版 I -g)或略微偏离(图 I -h)1个壳缘支持突。唇形突外管与壳缘支持突外管几乎等长(图版 I -g、j)。壳面硅质化弱, 壳套处硅质化较重, 孔纹之间有明显的硅质增厚, 还散布着硅质小刺(图版 I -g、i)。壳套高度为2—3个孔纹(图版 I -j), 密度为10 μm 内54—74个。

本文仅见壳环带结构(图版 I -j), 其约四分之

一的宽度是无孔区,其余则分布有孔纹。孔纹大小不一,靠近壳缘处有1行规则排列的大孔,密度是10 μm 内65—72个。

生境:海洋浮游生活。

分布:标本采自惠州大亚湾(3月)。

新种词源学:壳面孔纹束状排列为新种的典型

特征,故取名为扇形海链藻 *T. flabellata*。

模式标本产地:广东大亚湾(22°41'52.4" N, 114°34'22.1"E)。

模式标本保存地:MC328株系的永久玻片和固定样保存在广东华南师范大学生命科学学院实验室,标本玻片的编号为PS37。

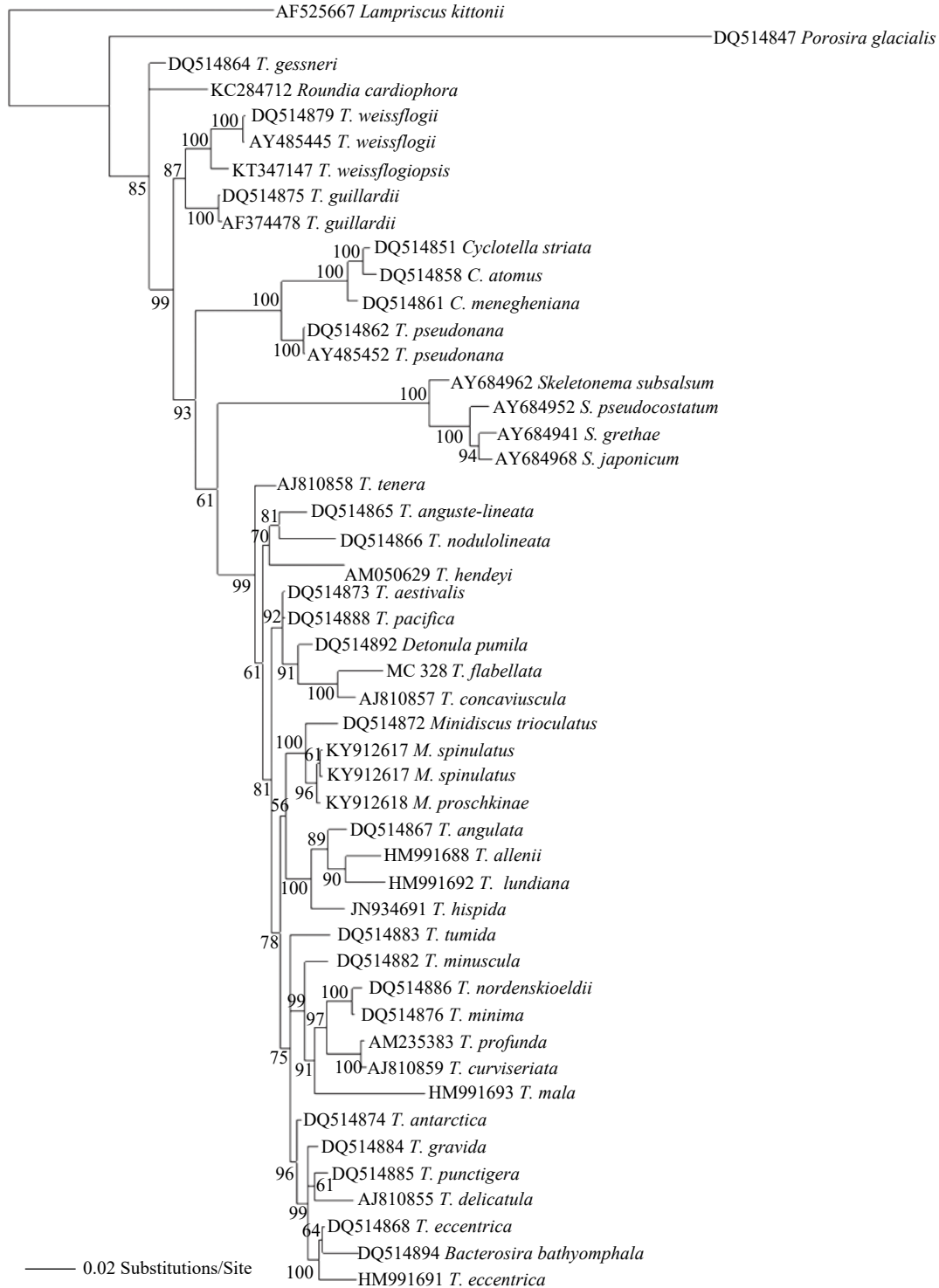


图1 基于核糖体小亚基SSU nrDNA构建的贝叶斯系统树

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree inferred based on sequences of SSU of the nuclear rDNA

3 讨论

3.1 扇形海链藻与相似种的形态学比较研究

扇形海链藻具有典型海链藻物种的特征: 一个中央支持突、一圈壳缘支持突和一个壳缘唇形突。具有这一特征的还有艾伦海链藻 *T. allenii*、柔弱海链藻 *T. tenera*、微小海链藻 *T. exigua*、深奥海链藻 *T. profunda*、帕尔海链藻、海氏海链藻 *T. has-*

leae、太平洋海链藻、夏眠海链藻等物种^[2]。但是它们之间的孔纹排列方式又不尽相同, 艾伦海链藻呈切线状或偏心状排列、柔弱海链藻和微小海链藻呈直线列状排列、深奥海链藻呈不明显辐射状排列、海氏海链藻呈放射状或不完全的线形排列、太平洋海链藻呈切线状排列、夏眠海链藻呈放射状排列^[2]。其中扇形海链藻和帕尔海链藻的壳

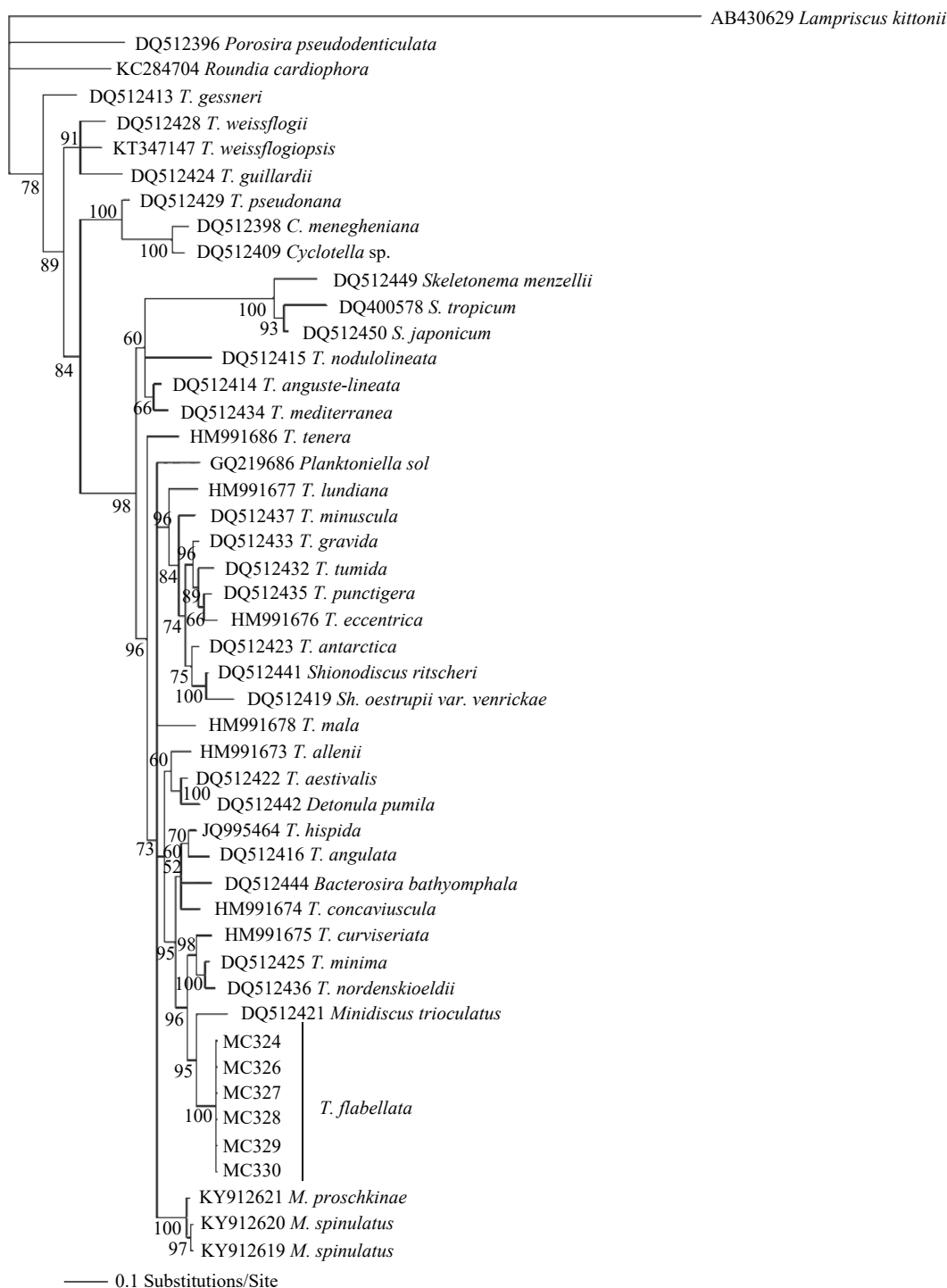


图2 于核糖体大亚基LSU nrDNA D1-D3构建的贝叶斯系统树

Fig. 2 Molecular phylogenetic tree inferred based on sequences of LSU of the nuclear rDNA

面孔纹排列成扇形或束状,使之显著区别与其他相似物种。扇形海链藻与帕尔海链藻的区别在于:扇形海链藻壳面支持突和唇形突均具有外管,而帕尔海链藻的突起没有外管,只有内管;其次,扇形海链藻壳面平,而帕尔海链藻的壳面隆起呈鼓状;第三,扇形海链藻的中央支持突具有3个围孔,而帕尔海链藻具有4—5个围孔。

壳面孔纹束状排列的特征在其他一些海链藻物种也具有报道,例如细弱海链藻*T. subtilis*、双环海链藻*T. diporocyclus*、小字海链藻*T. minuscula*、斑点海链藻*T. punctigera*、伦德海链藻*T. lundiana*、安达曼海链藻*T. andamanica*、管状海链藻*T. tubifera*、碟形海链藻*T. minicosmica*等。但是它们之间的区别特征也十分明显:(1)细弱海链藻、双环海链藻、小字海链藻、斑点海链藻、碟形海链藻和安达曼海链藻均可形成胶质状群体,而扇形海链藻则未见胶质群体;(2)斑点海链藻、管状海链藻和伦德海链藻具有闭合突,而扇形海链藻则无;(3)上述大部分海链藻的壳面均分布有支持突,而扇形海链藻、斑点海链藻和碟形海链藻不具有这一特征;(4)细弱海链藻、双环海链藻、小字海链藻的壳缘支持突无外管,而扇形海链藻则有明显的外管。总体而言,上述海链藻物种的相似特征彼此重叠,需要运用多重特征的对比,才能准确区分。

3.2 海链藻的分子系统学研究

核糖体小亚基SSU和大亚基LSU序列是硅藻研究中应用较多的目标基因,在多个疑难类群的分类学研究中得到广泛应用,如骨条藻属*Skeletonema*^[13]、角毛藻属*Chaetoceros*^[14, 15]等。SSU首先被应用于海链藻科的系统学研究,显示海链藻属应该是多系起源而不是1个自然类群^[16]。本文基于SSU和LSU的系统学分析,也再次验证了这一结论,或许预示着现存海链藻属应该是由几个独立属构成。虽然基于SSU和LSU的系统学分析均支持海链藻属是多系起源,但是并未清晰显示其下各个小类群的划分,因此目前仍不能建立统一的系统学关系。在本文研究中,扇形海链藻在SSU和LSU系统树中的位置并不一致。这也表明核糖体基因在海链藻研究中存在一定的局限性。后续研究需要探索更多的目的基因,例如叶绿体基因*rbcL*、线粒体基因*COX1*、*psbC*等,继而筛选更加适宜于海链藻的标记基因,以期有助于海链藻属新的系统学体系的构建。

参考文献:

- [1] Round F E, Crawford R M, Mann D G. The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera [M]. Cambridge: Cambridge University Press. 1990, 747
- [2] Hasle G R, Syvertsen E E. Marine Diatoms [M]. San Diego: Academic Press. 1997, 5—387
- [3] Guiry M D, Guiry G M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway [EB/OL]. <http://www.algaebase.org/>
- [4] Fryxell G A, Hasle G R. Taxonomy of Harmful Diatoms [M]. Paris: Imprimerie Landais. 2004, 465—510
- [5] Hasle G R. Some *Thalassiosira* species with one central process (Bacillariophyceae) [J]. *Norwegian Journal of Botany*, 1978, **25**(1): 77—110
- [6] Fryxell G A. Three new species of *Thalassiosira*, with observations on the occluded process, a newly observed structure of diatom valves [J]. *Nova Hedwigia: Beih.*, 1975, **53**(1—2): 57—73
- [7] Li Y, Zhao Q L, Lü S H. The genus *Thalassiosira* off the Guangdong coast, South China Sea [J]. *Botanica Marina*, 2013, **56**(1): 83—110
- [8] Guo X H, Guo Y Q, Li Y. *Thalassiosira allenii* var. *striata* as a new variety in the genus *Thalassiosira* Cleve [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(4): 824—831 [郭晓慧, 郭雅琼, 李扬. 海链藻属一新变种艾伦海链藻肋纹变种. *水生生物学报*, 2018, **42**(4): 824—831]
- [9] Guo X H, Guo Y Q, Li Y. *Thalassiosira minuscula* var. *bicustodis*, a new variety in the genus *Thalassiosira* [J]. *Plant Science Journal*, 2018, **36**(4): 508—517 [郭晓慧, 郭雅琼, 李扬. 小字海链藻双卫变种, 海链藻属一新变种. *植物科学学报*, 2018, **36**(4): 508—517]
- [10] Guo Y Q, Li Y. The morphological and phylogenetic studies on two newly recorded *Thalassiosira* species from China [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(1): 196—205 [郭雅琼, 李扬. 我国新记录海链藻属物种的形态学和系统学研究. *水生生物学报*, 2018, **42**(1): 196—205]
- [11] Li Y, Guo Y Q, Guo X H. Morphology and molecular phylogeny of *Thalassiosira sinica* sp. nov. (Bacillariophyta) with delicate areolae and fuloportulae pattern [J]. *European Journal of Phycology*, 2018, **53**(2): 1—13
- [12] Hall T A. BioEdit: a User-friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT [C]. *Nucleic Acids Symposium Series*. London: Information Retrieval Ltd, c1979-c2000, 1999, (41): 95—98
- [13] Adriana Zingone, Percopo I, Sims P A, et al. Diversity in the genus *Skeletonema*, (bacillariophyceae). i. a reexamination of the type material of *S. costatum*, with the description of *S. grevillei*, sp. nov. 1 [J]. *Journal of Phycology*,

- 2005, **41**(1): 140—150
- [14] Zhai M Y, Zhu S Y, Chen Z Y, *et al.* Preliminary study on the species diversity of *Chaetoceros lorenzianus* complex from Guangdong coastal waters [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(6): 1282—1290 [翟梦怡, 朱素英, 陈作艺, 等. 广东沿海洛氏角毛藻复合群物种多样性的探究. *水生生物学报*, 2017, **41**(6): 1282—1290]
- [15] Li Y, Boonprakob A, Gaonkar C C, *et al.* Diversity in the globally distributed diatom genus *Chaetoceros* (Bacillariophyceae): three new species from warm-temperate waters [J]. *PLoS One*, 2017, **12**(1): e0168887
- [16] Alverson A J, Jansen R K, Theriot E C. Bridging the Rubicon: Phylogenetic analysis reveals repeated colonizations of marine and fresh waters by thalassiosiroid diatoms [J]. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 2007, **45**(1): 193—210

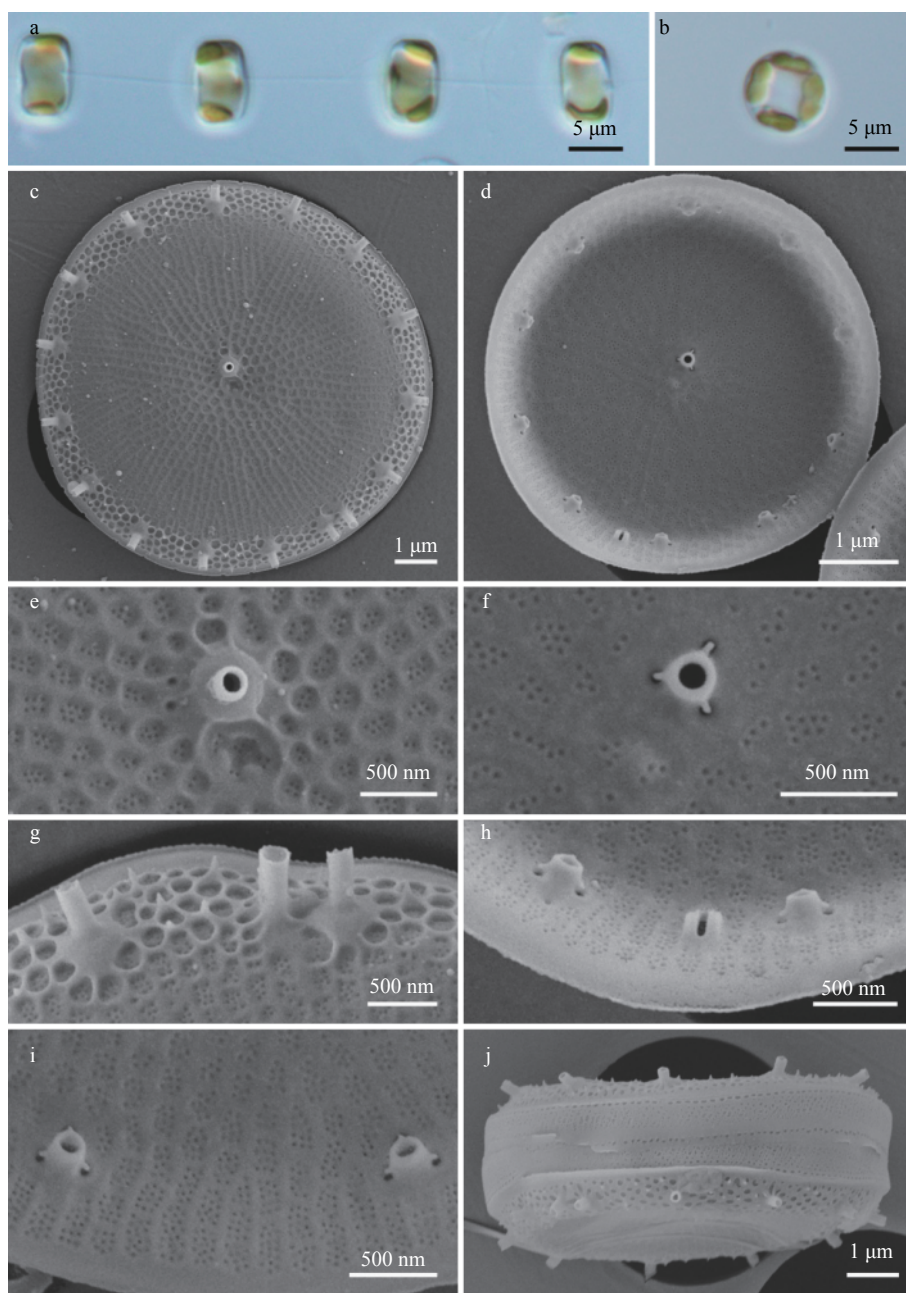
THE IDENTIFICATION OF NEW THALASSIOSIRA FLABELLATA SP. NOV., WITHIN THE GENUS THALASSIOSIRA CLEVE FROM DAYA BAY OF THE SOUTH CHINA SEA

GUO Xiao-Hui, GUO Ya-Qiong and LI Yang

(Guangzhou Key Laboratory of Subtropical Biodiversity and Biomonitoring, Guangdong Provincial Key Laboratory of Healthy and Safe Aquaculture, College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: To explore the species diversity of the marine diatom genus *Thalassiosira* Cleve, several monoclonal strains were established from Daya Bay, north coast of the South China Sea. The morphology of the cells was examined by light and scanning electron microscopy. The hypervariable D1-D3 region of the nuclear large-subunit ribosomal DNA and the relatively conserved region of the nuclear small-subunit ribosomal DNA were sequenced and used for phylogenetic relationship analysis. Combined the morphology and molecular data, a new species, *T. flabellata* sp. nov. X H Guo, Y Q Guo & Y Li was described. The cells normally form short chains or solitary. A central fultoportula, one ring of marginal fultoportulae and one marginal rimoportula are present on the valve face. This species is characterized by fasciculate areolae on the valve.

Key words: *Thalassiosira*; Morphology; Phylogen; *Thalassiosira flabellata*



图版 I 扇形海链藻

Plate I *Thalassiosira flabellata*

a—b. LM; c—j. SEM; a. 群体, 环面观; b. 壳面观; c. 外壳面观; d. 内壳面观; e. 中央支持突外壳面观; f. 中央支持突内壳面观; g. 外壳面唇形突和壳缘支持突; h. 内壳面唇形突和壳缘支持突; i. 壳缘支持突; j. 环面观及壳套

a—b. LM; c—j. SEM. a. Colony in girdle view; b. Valve view; c. External valve view; d. Internal valve view; e. Central fultoportula on external valve; f. Central fultoportula on internal valve; g. Rimoportula and marginal fultoportulae on external valve; h. Rimoportula and fultoportulae on internal valve; i. Marginal fultoportulae; j. Girdle view and valve mantle