

中国蓝藻新记录科——束鞘丝藻科(Coleofasciculaceae, Oscillatoriales)

胡朝文 张荣臻 张和 肖鹏 李仁辉 耿若真 程耀

TAXONOMIC NOTES ON COLEOFASCICULACEAE (OSCILLATORIALES, CYANOBACTERIA), A NEWLY RECORDED CYANOBACTERIA FAMILY IN CHINA

HU Chao-Wen, ZHANG Rong-Zhen, ZHANG He, XIAO Peng, LI Ren-Hui, GENG Ruo-Zhen, CHENG Yao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2023.0029>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

鲤肠道寄生岳阳碘泡虫新种的形态特征及系统发育分析

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTIC OF *MYXOBOLUS YUEYANGENSIS* SP. NOV. (MYXOZOA: MYXOBOLIDAE) FROM THE INTESTINE OF COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*) IN CHINA

水生生物学报. 2017, 41(6): 1251–1256 <https://doi.org/10.7541/2017.155>

鳢亚科棒花鱼属鱼类的分类与系统发育关系

TAXONOMY AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF THE GENUS *ABBOTTINA* FISHES IN THE SUBFAMILY GOBIONINAE

水生生物学报. 2017, 41(4): 843–852 <https://doi.org/10.7541/2017.105>

鳢亚科似鳢属鱼类的物种界定和系统发育关系

SPECIES DELIMITATION AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *PSEUDOGOPIO* FISHES IN THE SUBFAMILY GOBIONINAE

水生生物学报. 2017, 41(3): 617–628 <https://doi.org/10.7541/2017.79>

丝状蓝藻长孢藻属的中国一新记录种——蒙氏长孢藻

A NEWLY RECORDED SPECIES OF FILAMENTOUS CYANOBACTERIUM——*DOLICHOSPERMUM MENDOTA* IN CHINA

水生生物学报. 2017, 41(1): 238–243 <https://doi.org/10.7541/2017.30>

中国淡水胭脂藻属植物形态及分子系统发育分析

MORPHOLOGY AND MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS OF FRESHWATER *HILDENBRANDIA* IN CHINA

水生生物学报. 2021, 45(6): 1341–1350 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.200>

我国新记录海链藻属物种的形态学和系统学研究

THE MORPHOLOGICAL AND PHYLOGENETIC STUDIES ON TWO NEWLY RECORDED *THALASSIOSIRA* SPECIES FROM CHINA

水生生物学报. 2018, 42(1): 196–205 <https://doi.org/10.7541/2018.025>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2023.0029

中国蓝藻新记录科——束鞘丝藻科(Coleofasciculaceae, Oscillatoriales)

胡朝文¹ 张荣臻² 张 和¹ 肖 鹏¹ 李仁辉¹ 耿若真¹ 程 耀¹

(1. 温州大学生命与环境科学学院, 温州 325035; 2. 温州市珊溪水利枢纽管理中心, 温州 325000)

摘要: 束鞘丝藻科(Coleofasciculaceae)是Komárek等于2014年从微鞘藻类群中(*Microcoleus*-like)分离出来而成立的新科。最近在一项关于中国丝状蓝藻的分类学研究过程中, 从中国浙江省采集的藻席样品中成功分离到4株丝状蓝藻, 这些藻株在形态学上与束鞘丝藻科的物种相似, 基于16S rRNA和16S—23S rRNA序列中间ITS序列的二级结构等分子特征和系统发育分析表明, 这些藻株与束鞘丝藻科的厚顶丝藻属(*Pycnacronema*)和威氏藻属(*Wilmottia*)分别能形成支持度良好的进化分支。结合分子、形态学和生态学数据以多相分析方法对藻株进行了系统化的研究和分类学界定。束鞘丝藻科在中国属于首次报道的蓝藻类群, 同时这两属也是我国首次报道的新记录属。文章还结合了束鞘丝藻科的成立历史对现代蓝藻分类系统的重建过程, 结果及发展趋势等新知识进行了介绍和讨论。

关键词: 蓝藻; 束鞘丝藻科; 新记录科; 分类; 系统发育

中图分类号: Q949.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)12-1976-10



蓝藻是一类古老的光合放氧原核生物^[1], 是地球早期生命演变的重要一环^[2]。蓝藻藻体结构简单但形态多样, 这种特性反而使得蓝藻的分类具有极大的挑战性^[3]。蓝藻最初的分类系统从出现到现在已逾百年^[4], 最初以形态学差异为切入点, 遵循植物学命名法则进行命名和描述^[5]。随着现代生物技术特别是DNA分子序列的大量检出, 蓝藻分类学快速发展, 历经多次变革与修订^[6-8], 形成了以重要的分子证据如16S rRNA基因序列相似度阈值(16S rRNA基因95%和97.5%分别作为属和种划分的阈值)为主的参考指标, 结合形态学、分子系统发育学和生态学等多项特征相结合的分析方法^[9]。这一方法逐渐被蓝藻分类学家接受, 现代蓝藻分类系统已经表现出各分类阶层单系统化且分类地位清晰化的特点, 特别是“属水平”上向着狭义化的方向在不断推进^[10,11]。多相分类方法的应用也导致大量的蓝藻旧的属/种被修订及新的属/种被发现^[12-14]。在国内, 引入多种分子证据和将多相分类方法应用于蓝藻相关研

究领域已经有了成功案例^[15,16], 现代蓝藻分类系统的重建和现代蓝藻分类学研究的不断深化可为认识、保护和可持久性利用我国的蓝藻生物资源提供源源不断的重要的基本科学信息。

2014年捷克的Komárek等^[17]提出了最新的8目, 46科和202属的蓝藻分类系统是目前被广泛接受的, 具有权威性和重要参考意义的系统, 此系统增加了10个新科。束鞘丝藻科(Coleofasciculaceae)就是颤藻目(Oscillatoriales)里的新科之一, 是以束鞘丝藻属(*Coleofasciculus*)为模式属, 目前共包含了20个属。束鞘丝藻属是2008年以原形微鞘藻(*Microcoleus chthonoplastetes*)为模式种而成立的新属, 而其他的19属大部分都是2008年以后被发现和描述的。束鞘丝藻科的所有属在形态上都和微鞘藻类(*Microcoleus*-like)及席藻类(*Phormidium*-like)的蓝藻相似, 但是在DNA序列和系统发育关系上和这两类有明显区别。无论是束鞘丝藻科, 还是归属于束鞘丝藻科的20个属, 在中国的蓝藻研究和藻类文献中, 既

收稿日期: 2023-01-18; 修订日期: 2023-03-01

基金项目: 浙江省自然科学基金重大项目(LD21C030001); 国家自然科学基金(31970219)资助 [Supported by the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (LD21C030001); the National Natural Science Foundation of China (31970219)]

作者简介: 胡朝文(1998—), 男, 硕士研究生; 主要研究方向为藻类生理生态学。E-mail: 18379261151@163.com

通信作者: 程耀(1994—), 主要研究方向为蓝藻分类学。E-mail: wzuchengyao@163.com

没有研究数据和纪录资料, 也没有基本的中文翻译的科/属名。

在本研究中, 我们在中国浙江省湖州市的市区采样过程中, 从环境样品中采集并分离出4株丝状蓝藻藻株, 在形态学上与束鞘丝藻科的丝状蓝藻相似, 基于16S rRNA基因的系统发育分析发现分离的藻株分别与厚顶丝藻属(*Pycnacronema*)和威氏藻属(*Wilmottia*)的藻种聚为紧密的系统进化分支并且共同与束鞘丝藻属的模式藻株代表序列聚集在一个大的簇中^[18, 19]。研究所得藻株显示出与上述两属参考藻株的最高的序列相似度分别为98.56%和98.59%。进一步通过形态学观察和ITS基因的二级结构模拟折叠构型比较, 确定本研究获得的4株藻株分别为厚顶丝藻属和威氏藻属的物种。这不仅是我国对厚顶丝藻属和威氏藻属的新记录属的报道, 同时也是我国首次报道蓝藻束鞘丝藻科的相关藻株信息。

1 材料与方法

1.1 样品的采集、藻种分离及培养

2021年7月在浙江省湖州市吴兴区潮音古桥附近(30°85'68.5"N, 120°09'43.2"E)使用镊子从靠近岸边的石头上将藻席(Microbial mats)剥离并装入土壤采样袋带回实验室。使用无菌水对藻席样本进行反复冲洗, 去掉大部分泥土之后采用经典的毛细管分离法: 将巴斯德吸管制作成毛细管(Pasteur pipette)在50倍解剖镜(Carl Zeiss STEMI 508, Germany)下挑取单根藻丝^[20], 移取到盛有无菌水的四孔玻璃板吹吸清洗6—7次, 然后转移至预先装有已灭菌的新鲜CT培养基的24孔无菌细胞培养板中进行培养。培养条件为: 温度25℃, 光照强度为35 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光暗周期为12h:12h, 一定时间后便可得到纯藻株。将纯化后的藻种转移到装有10 mL CT培养基的旋盖玻璃试管进行培养, 每1—2个月进行转接。本研究得到的四株藻种保存在温州大学生命与环境科学学院藻类与水体富营养化研究组藻种库中。藻种编号分别为WZU0139、WZU0140、WZU0188和WZU0190。

1.2 藻株的形态观察及藻类细胞特征计量

光学显微镜观察: 藻株生长至一定生物量时, 无菌操作取1 mL藻液, 适当稀释后用灭菌巴斯德吸管吸取一定量藻丝置于载玻片上, 于光学显微镜下进行形态观察, 形态学观察使用带有微分干涉功能的LEICA DM2000 LED microscope型(LEICA, 德国)光学显微镜, 外接2000万像素的数码相机(LEICA DMC5400)和配套的台式计算机。数码照片的拍摄和藻细胞数据的测量是通过相应的图像分析软件

Leica Application Suite X 3.7.4来操作和实行。随机选取60—100以上的藻细胞进行藻丝宽度和营养细胞的长度等形态学数据的测量。

1.3 藻株基因组DNA的提取和目的基因的克隆及测序

将纯化的藻株进行扩大培养后使用改良的CTAB法提取基因组DNA^[21], 用于16S rDNA基因及16S-23S基因之间的ITS序列的扩增引物为PA (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和B23s (5'-CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT-3')^[22, 23], 由擎科生物南京基因合成基地合成。PCR反应采用50 μL 反应体系, 包含1 μL 基因组DNA、浓度为10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的两端引物各1 μL 、22 μL 无菌水、25 μL 2 $\times$ Taq Plus Master Mix(Dye Plus; Vazyme Biotech Co., Ltd, Nanjing, China)。扩增条件为: 95℃预变性5min; 95℃变性30s, 55℃退火30s, 72℃延伸2min, 31个循环; 72℃最终延伸10min。PCR扩增产物用1%的琼脂糖凝胶电泳检测, 通过TIANgel Midi Purification kit胶回收试剂盒(Tiagen Biotech Co., Ltd, Beijing, China)回收, 克隆到载体pClone007中(Beijing Tsingke Biotech CO., Ltd., Beijing, China), 将克隆载体转入到感受态细胞*E. coli* DH5 α (Beijing Tsingke Biotech CO., Ltd., Beijing, China), 用含Amp⁺的LB固体培养基进行抗性筛选, 于37℃的恒温培养箱过夜培养12h。挑取单克隆子菌落加入800 μL LB液体培养, 37℃, 190 r/min振荡培养4—5h后对菌液进行PCR检测, 提取阳性克隆子重组质粒进行Sanger双向测序, 挑选阳性克隆送武汉天一华煜基因科技有限公司(Wuhan Tianyi Huayu Gene Technology Co., Ltd)进行正向、反向序列的测通和将测得的片段进行拼接整理。

1.4 系统发育分析

测得的序列通过NCBI的比对工具BLAST进行比对, 从GenBank数据库中下载相关参考序列进行分子系统进化树的构建, 将所有的序列用MAFFT v7.463软件进行多重序列比^[24], 比对完成后的所有序列用BioEdit v7.0.9软件进行保守区裁剪得到1个46条序列构成长为1156 bp的多重序列矩阵^[25]。用MEGA v11软件以邻接法(Neighbor-joining method, NJ)构建系统发育树^[26], 参数设定采用Maximum Composite Likelihood为核苷酸替代模型, 步展值(Bootstrap value)为1000, 空位或缺失位点均当作配对删除(Pairwise deletion)处理。处理好的多重序列矩阵用PhyloSuite v1.2.2分子系统发育处理平台中的ModelFinder模块分析得到最佳模型^[27], 在赤池信息量准则(AIC)下(GTR+R3+F)被选为最大释然法

(Maximum Likelihood, ML)和贝叶斯分析(Bayesian Inference, BI)的最佳分析模型。最大释然法发育树的构建采用IQ-TREE v2.1.3软件^[28],步展值设为1000,贝叶斯分析采用MrBayes v3.2.7软件,以随机树起始^[29],运行1000000代,每100代采样1次,去除25%的老化样本,至平均标准偏差低于0.01,根据剩余的样本继续构建进化树。最后的系统发育树以ML树形为基础,用Fig Tree version 1.4.3(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)软件进行可视化编辑和树形美化^[30],在节点处加入贝叶斯后验概率作为分枝支持率。ML、NJ和BI三个系统发育树均以*Gloeobacter kilaueensis* JS1和*Gloeobacter violaceus* PCC 7421为门水平外类群。再次使用MEGA v1.1软件以Kimura2-parameter为核苷酸替代模型,进行p-distance计算构建相似性矩阵。

1.5 ITS二级结构分析

对于ITS(转录间隔区)的可能模拟结构的构建,首先在tRNAscan-SE 2.0.9网站上进行序列的tRNA验证,确认tRNA的位置后,根据相应的分子标记,寻找正确位置的序列片段^[31]。然后将二级结构的D1—D1'螺旋片段、Box-B螺旋片段和V3螺旋片段用Mfold Web v2.3软件在室温条件进行折叠^[32],折叠图形用Adobe illustrator 2021软件进行美化和调整。

2 结果

2.1 形态学观察

厚顶丝藻属(*Coleofasciculaceae*, *Oscillatoriales*)

未定种厚顶丝藻

Pycnacronema sp. M.D.Martins & Branco 2019 (图1)

丝状体蓝色至深绿色,相互紧密缠绕生长,藻丝之间相互滑动,有坚固的透明的薄鞘,藻丝之间横壁处微微收缩,末端细胞向藻丝末端变细或不变细。细胞呈圆柱形,细胞短于宽至等径,细胞颗粒状内容物均匀分布在细胞中。藻丝末端细胞钝圆,最后末端细胞有增厚的趋势,无帽状结构,无异形胞和厚壁孢子。通过在死细胞处断裂进行藻殖段繁殖。从形态学看,本研究获得的藻株细胞呈圆柱形,藻丝宽6.8—10.6 μm ,营养细胞长为4.5—7.8 μm ,细胞短于宽至等径,丝状体末端有渐渐增厚的趋势等特点与Martins等的形态学描述贴近^[18]。结合系统发育学结果,本研究获得的藻株WZU0188和WZU0190为中国蓝藻新记录属厚顶丝藻属。

生境: 河流旁的湿润岩石上固着生长。

分布: 浙江省湖州市。

参考藻株: WZU0188、WZU0190。

威氏藻属(*Coleofasciculaceae*, *Oscillatoriales*)

韩国威氏藻

Wilmottia koreana N.Lee, Y.Seo, J.Ki & O.Lee 2020(图2)

藻丝单根生长或与几个到许多藻丝平行生长,没有共同的坚固鞘,但被宽的,无色的,无层状的,扩散的胶被包裹。藻丝之间互相粘连,丝状体构造简单,沿整个藻丝(直到末端)呈圆柱形,淡蓝绿色,在细胞横壁上不收缩或仅略微收缩。细胞长大于

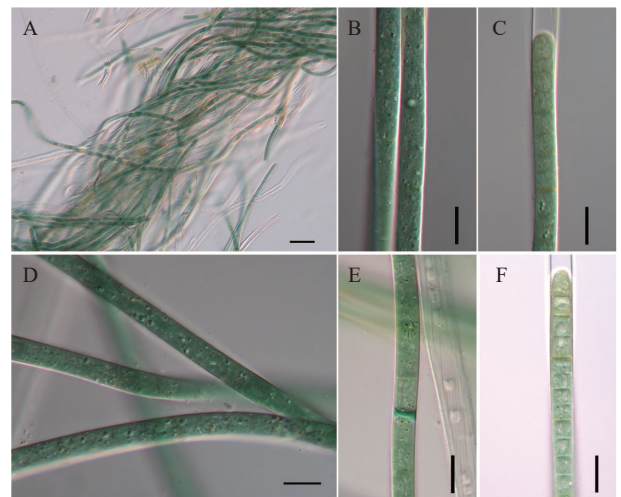


图1 光学显微镜下本研究获得厚顶丝藻的形态
Fig. 1 Morphology of *Pycnacronema* of WZU strains under light microscope

标尺: A=50 μm ; D=20 μm ; B, C, E, F=10 μm

Scale bars: A=50 μm ; D=20 μm ; B, C, E, F=10 μm

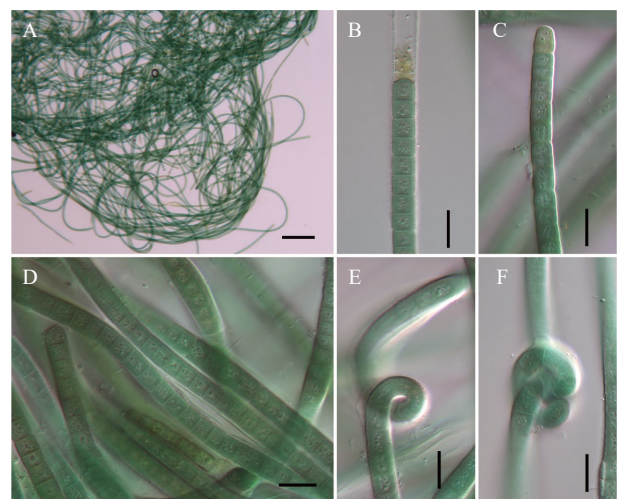


图2 光学显微镜下本研究获得威氏藻的形态
Fig. 2 Morphology of *Wilmottia* of WZU strains under light microscope

标尺: A=50 μm ; D=20 μm ; B, C, E, F=10 μm

Scale bars: A=50 μm ; D=20 μm ; B, C, E, F=10 μm

宽或等距, 末端细胞呈圆形或略微锥形, 无帽状结构。所有细胞都能够分裂。细胞内容物均匀或具有略微不同的倾向性堆积。在细胞中存在的明显颗粒, 有时更集中在细胞壁交叉附近。从形态学看, 本研究获得的藻株细胞呈圆柱形, 藻丝宽6.8—10.2 μm , 营养细胞长为4.5—7.8 μm 。细胞短于宽至等径, 细胞颗粒状内容物均匀且致密地分布在细胞中。从细胞大小到形态学特点均与Lee等^[33]的报道文献中描述相似, 结合系统发育学结果, 可以确定本研究获得的藻株WZU0139和WZU0140为中国蓝藻新记录属威氏藻属韩国威氏藻(*Wilmottia koreana*)。

生境: 河流旁的湿润岩石上固着生长。

分布: 浙江省湖州市。

参考藻株: WZU0139、WZU0140

2.2 分子系统学分析

采用上述引物分别扩增上述4株丝状蓝藻的目的基因片段, 分别得到全长为2018、2012、2025和2013 bp的16S rRNA、ITS和部分23S rRNA序列。其16S rRNA部分通过NCBI的在线比对工具BLAST比对发现, 本研究中WZU0139与WZU014藻株与韩国威氏藻的16S rRNA相似度超过到98%(表 1), WZU0188和WZU0190藻株与厚顶丝藻属中*Pycnacronema savannensis*的16S rRNA相似度超过到98%(表 2)。多重序列比对矩阵构建分子系统发育

树(图 3)和分别与各自属内现存所有物种的16S rRNA相似性矩阵进行遗传距离计算(表 3和表 4)结果分别支持WZU0188和WZU0190藻株与厚顶丝藻属内各物种聚类在高步展值和贝叶斯后验概率支持的一支中(Clade A), WZU0139与WZU0140与威氏藻属各物种聚类到高步展值和贝叶斯后验概率的一支中(Clade B), 并且代表两属的分支能与代表狭义束鞘丝藻属的Clade C 共同聚类到代表束鞘丝藻科主体的一个大类群中, 说明本研究获得4株藻株, 在系统发育学结果的支持下, 成立为中国的蓝藻束鞘丝藻科的两新纪录属。

2.3 ITS二级结构分析

本研究中属于厚顶丝藻属的藻株WZU0188、WZU0190与参考藻株之间的ITS区域分析与相关螺旋模拟折叠构型表现出同一属物种的相似趋势, 本研究中获取的两藻株在tRNA的编码基因和各螺旋碱基长度方面与参考藻株基本一致。D1—D1'螺旋方面, 厚顶丝藻属内所有物种, 享有相同的长度为4 bp的基部茎结构和基本构型一致的基部双侧凸起结构(多为2:9双侧凸起), 不同之处在于中部凸起和顶部环状的碱基排列, 总体上的构型折叠走向极其相似(图 4), 其中*P. rubrum*的D1—D1'螺旋结构在碱基序列相似的情况下模拟折叠出与同属内其他种类不同的构型, 具有很高的辨识度。Box-B螺旋

表 1 WZU0188/0190与厚顶丝藻属藻株16S rRNA基因序列相似度比较

Tab. 1 Sequence similarity comparison of the 16S rRNA gene between *Pycnacronema* strains (%)

藻株Strain	基因库GenBank	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. WZU0188	—									
2. WZU0190	—	99.93								
3. <i>Pycnacronema savannensis</i>	NR177913.1	98.09	98.00							
4. <i>Pycnacronema rubrum</i>	NR177912.1	97.25	97.18	98.61						
5. <i>Pycnacronema marmoreum</i>	NR177911.1	97.32	97.25	98.26	97.11					
6. <i>Pycnacronema conicum</i>	NR177910.1	97.32	97.25	98.44	97.46	96.48				
7. <i>Pycnacronema brasiliensis</i>	NR177909.1	97.60	97.53	98.96	97.53	96.83	97.18			
8. <i>Pycnacronema arboriculum</i>	NR177908.1	97.25	97.18	98.26	97.46	96.69	98.29	97.39		
9. <i>Pycnacronema arboriculum</i>	NR172607.1	96.93	96.84	98.17	97.55	96.66	97.91	98.00	98.08	
10. <i>Pycnacronema edaphica</i>	NR172608.1	96.30	96.21	96.75	96.48	96.57	96.93	97.02	97.02	96.21

表 2 WZU0139/0140与威氏藻属藻株16S rRNA基因序列相似度比较

Tab. 2 Sequence similarity comparison of the 16S rRNA gene between *Wilmottia* strains (%)

藻株Strain	基因库GenBank	1	2	3	4	5
1. WZU0139	—					
2. WZU0140	—	100.00				
3. <i>Wilmottia koreana</i> FBCC-A812	NR172594.1	98.56	98.56			
4. <i>Wilmottia stricta</i> 31PC	NR177922.1	95.73	95.73	95.15		
5. <i>Wilmottia murrayi</i> FBCC-A402	MN473878.1	96.65	96.65	96.59	95.94	
6.“ <i>Phormidium arthurensis</i> ”	HQ012544.1	97.26	97.26	96.71	97.91	98.29

方面,所有物种也都具有相同的长度为5 bp的基部茎环结构,从总体的折叠走向和中部双侧凸起及顶部环状的结构来看,厚顶丝藻属内*P. savannensis*、*P. brasiliensis*、*P. edaphica*和*P. rubrum*等4个物种与藻株WZU0188和WZU0190的构型相似,*P. arboriculum*、*P. conicum*和*P. marmoreum*三个物种的构型相似程度较高,说明厚顶丝藻属不同物种之间的亲缘关系不同(图 5)。V3螺旋方面,厚顶丝藻属内各物种的构型可变性较大,无论是构型走势还是碱基排列都相差较多。综合来看,在属内各物种之间,*P. arboriculum*与*P. marmoreum*的ITS结构相似

性是最大的,藻株WZU0188、WZU0190的构型与*P. savannensis*的相似程度最高(图 6)。

本研究中属于威氏藻属的藻株WZU0139、WZU0140与参考藻株之间的ITS区域分析与相关螺旋模拟折叠构型也表现出同一属物种的相似趋势,但是构型可变程度大于厚顶丝藻属。本研究中获取的两藻株在tRNA的编码基因和各螺旋碱基长度方面与参考藻株也基本一致。D1—D1'螺旋方面,藻株WZU0139、WZU0140与同物种参考藻株FBCC-A812具有相同的4 bp长度的基部茎环结构,拥有相同的5'-AGCAAU-3'碱基形成的右侧凸起,

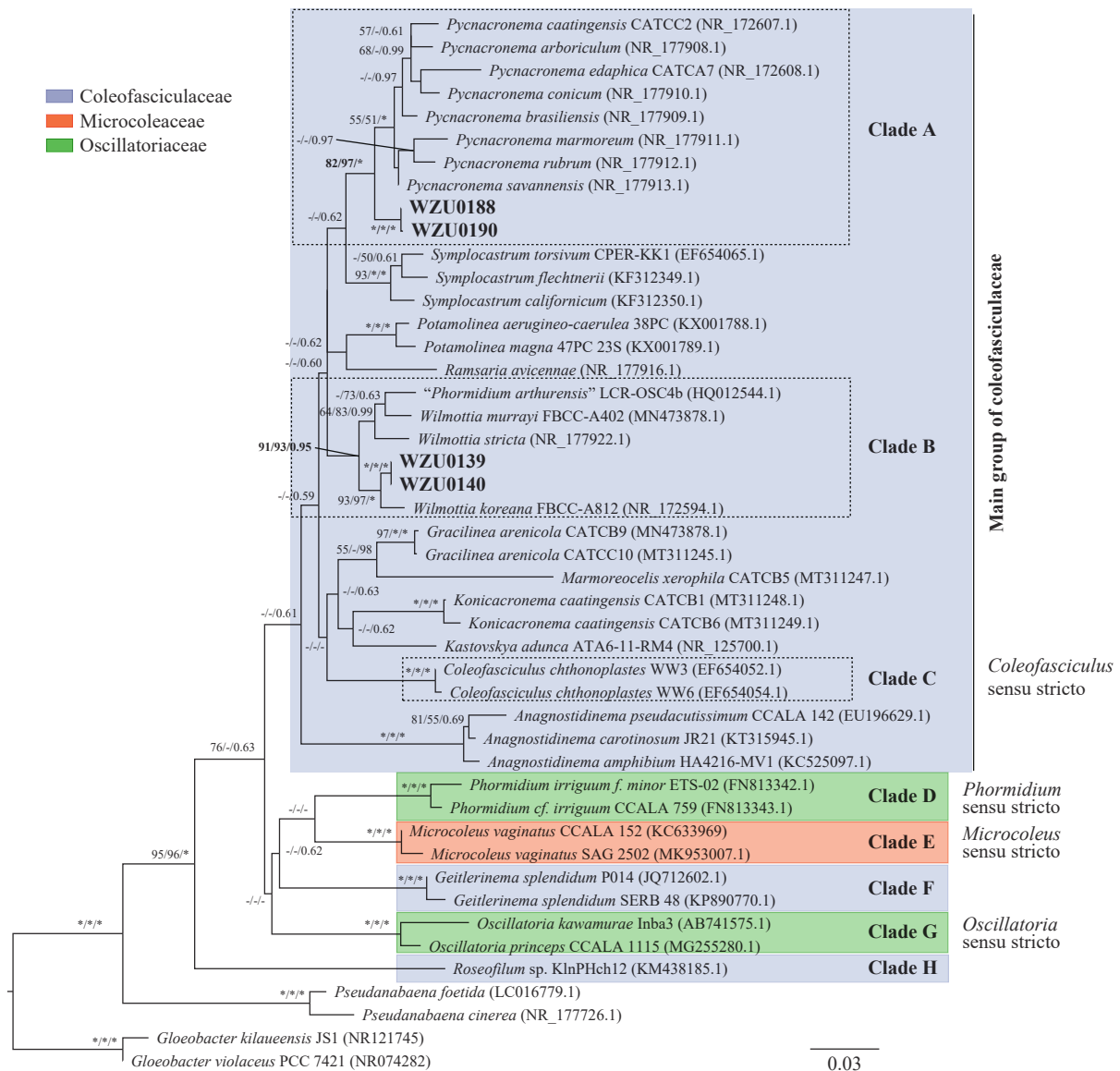


图 3 基于16S rRNA基因WZU藻株的最大似然法(ML)系统发育树

Fig. 3 Maximum Likelihood (ML) phylogenetic tree of WZU strains based on 16S rRNA gene sequences

在ML树上显示大于50%的NJ/ML方法的相应步展值和贝叶斯后验概率,数值为100或1时,用*代替;比例尺=0.03(每个位点发生0.03个核苷酸替换)

Bootstrap values greater than 50% are showed on the ML tree for NJ methods and ML methods and Bayesian posterior probabilities, when the bootstrap values is 100 or 1, replace it with “*”; scale bar=0.03 (nucleotide substitutions per site)

表 3 厚顶丝藻属的16S—23S rRNA 内部转录间隔区(ITS)的分析
Tab. 3 Analyses of 16S—23S rRNA ITS region of *Pycnacronema* strains

藻株Strain	基因库GenBank	Complete ITS (nt)	D1—D1' Helix (nt)	tRNA ^{Ile}	tRNA ^{Ala}	Box-B Helix (nt)	Box-A Helix (nt)	D4	V3 Helix (nt)	D5
1. WZU0188	—	376	57	+	—	41	12	7	40	21
2. WZU0190	—	376	57	+	—	41	12	7	40	21
3. <i>Pycnacronema savannensis</i>	NR177913.1	422	57	+	—	36	12	7	64	18
4. <i>Pycnacronema rubrum</i>	NR177912.1	429	58	+	—	39	12	7	59	18
5. <i>Pycnacronema marmoreum</i>	NR177911.1	375	62	+	—	36	12	7	63	12
6. <i>Pycnacronema conicum</i>	NR177910.1	364	63	+	—	37	12	7	13	17
7. <i>Pycnacronema brasiliensis</i>	NR177909.1	433	58	+	—	40	12	7	63	21
8. <i>Pycnacronema arboriculum</i>	NR177908.1	424	59	+	—	36	12	7	65	21
9. <i>Pycnacronema arboriculum</i>	NR172607.1	408	60	+	—	36	12	13	47	21
10. <i>Pycnacronema edaphica</i>	NR172608.1	414	61	+	—	38	12	13	40	20

表 4 威氏藻属的16S—23S rRNA 内部转录间隔区(ITS)的分析
Tab. 4 Analyses of 16S—23S rRNA ITS region of *Wilmottia* strains

藻株Strain	基因库GenBank	Complete ITS (nt)	D1—D1' Helix (nt)	tRNA ^{Ile}	tRNA ^{Ala}	Box-B Helix (nt)	Box-A Helix (nt)	D4	V3 Helix (nt)	D5
1. WZU0139	—	435	63	+	—	44	12	7	46	11
2. WZU0140	—	435	63	+	—	44	12	7	46	11
3. <i>Wilmottia koreana</i> FBCC-A812	NR172594.1	417	62	+	—	41	12	7	42	14
4. <i>Wilmottia stricta</i> 31PC	NR177922.1	392	33	+	—	39	12	7	46	9
5. <i>Wilmottia murrayi</i> FBCC-A402	MN473878.1	428	66	+	—	55	12	7	67	13

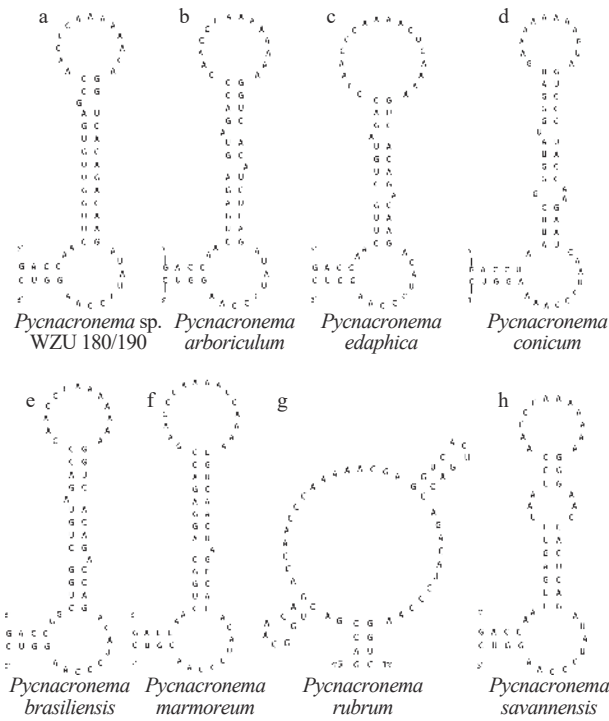


图 4 厚顶丝藻属内全部物种的D1—D1'螺旋结构
Fig. 4 D1—D1' helix of *Pycnacronema* strains

中部有相似的多A多U碱基螺旋, 在顶端环状结构的走向和碱基构成上显示出区别。其他两物种则

构型特殊。Box-B螺旋方面, 威氏藻属内物种的构型高度相似, 具有相同的基部结构和相似的凸起和顶部环状结构。V3螺旋方面, 威氏藻属内各物种的构型可变性最大, 不同物种之间的构型差异较大(图 7)。总体上看, ITS不同螺旋的构型显示, 相同物种之间的构型相似度大于不同物种之间, 两个属的构型差异来看, 相同属内物种之间构型相似度远大于不同属物种之间的构型差异度, 从侧面也佐证了ITS构型差异也是现代蓝藻分类学中物种划分的重要证据。

3 讨论

蓝藻分类研究引入分子证据已经超过30年的历史了^[34], 在此期间, 公共数据库中累积了大量的基因序列可以对来自世界不同环境和地区的生物进行比较, 蓝藻分类学的发展因此得到了快速的发展。蓝藻分类系统的不断修订和完善以帮助建立一套确实可行的分类学体系和研究规范, 无数的新物种和新类群揭开了神秘的面纱。同时结合旧的没有分子参考证据的物种进行新组合而成立有效的新分类单元的重要性是大于单纯成立新分类单元的^[35]。本研究中的束鞘丝藻科(Coleofasciculaceae)就是近年来一次成功的尝试, 原形微鞘藻(*Microcoleus chthonoplastes*)在系统发育上远离微鞘藻科的

模式属位置,而且形态学特征与传统的微鞘藻类群差距较大,Friedl等^[36]根据其胶鞘内多根藻丝成束的特点,在2008年成立束鞘丝藻属(*Coleofasciculus*),模式种为新组合的原形束鞘丝藻(*Coleofasciculus chthonoplastes*)。2014年Komárek等^[17]的最新蓝藻分类系统,把一大部分系统发育学位置靠近束鞘丝藻属并且远离其他科,同时与束鞘丝藻属的形态学特征靠近的属则以束鞘丝藻属为模式属成立束鞘丝藻科。束鞘丝藻科是目前颤藻目内的“模范藻科”,除盖斯藻属(*Geitlerinema*)和*Roseofilum*的分类学地位存在问题外,其余各属保证了属水平上是单系,科水平聚类良好的现状。

本研究发现的4株藻株均来自河流岸边潮湿石头上的藻席,在分布广泛的丝状蓝藻里除少部分种类会在水面浮游生长(如气丝藻和泽鞘丝藻)^[37, 38],大多数种类会在岸边或水底石头上形成藻席或和水草、水棉等高等植物混合生长在一起,所以藻席也是一种微尺度的生态系统。在海洋生态系统中固着蓝藻的生境与淡水生态系统类似,集中在海岛

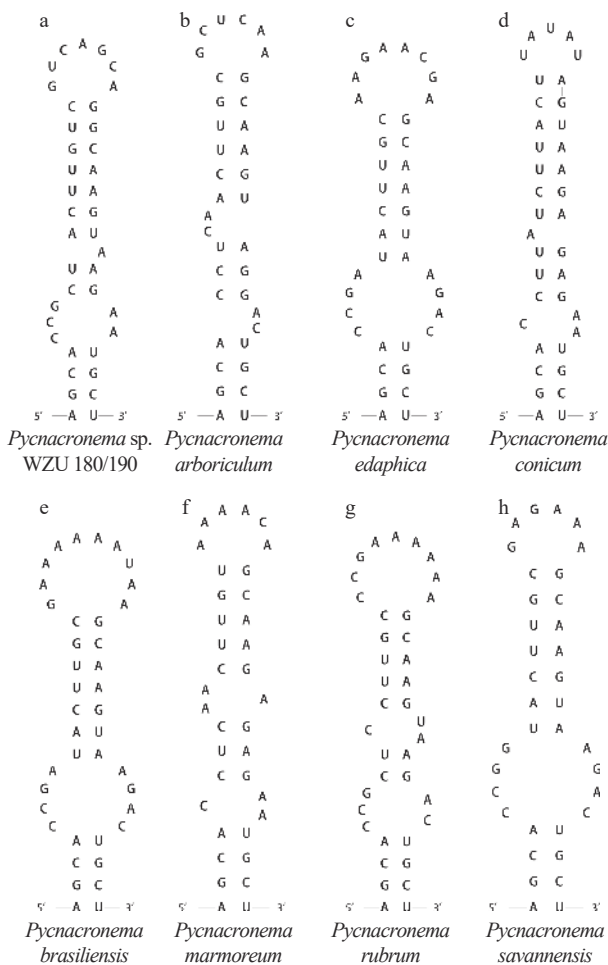


图5 厚顶丝藻属内全部物种的Box-B螺旋结构

Fig. 5 Box-B helix of *Pycnacronema* strains

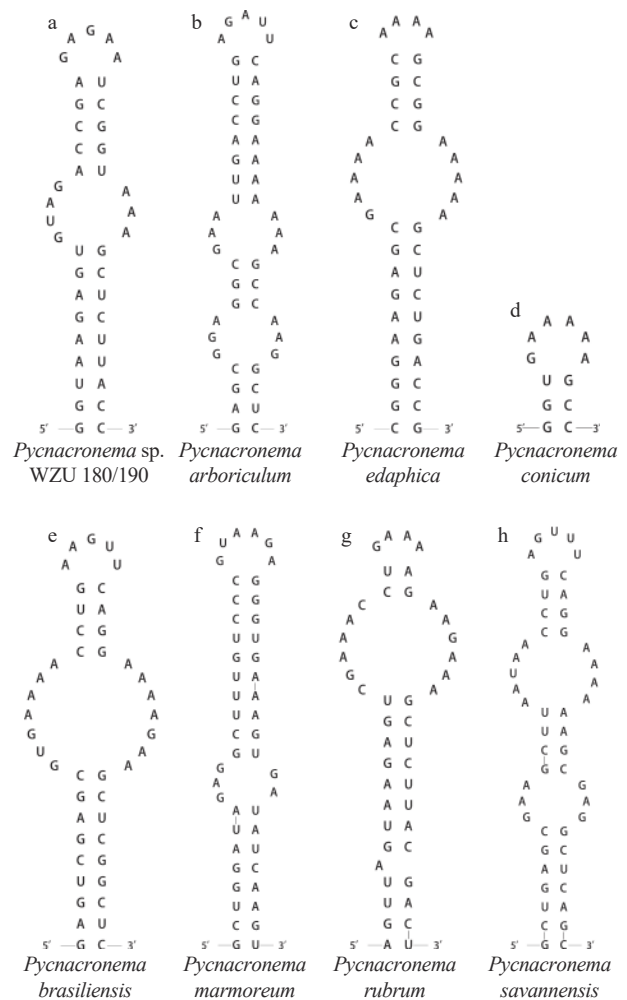


图6 厚顶丝藻属内全部物种的V3螺旋结构

Fig. 6 V3 helix of *Pycnacronema* strains

沿岸的礁石或大型植物的根茎等容易固着的地方。相较于能形成水华的浮游型蓝藻(Planktonic cyanobacteria),此类固着蓝藻在全球范围内分布更广,多样性更高^[39],同时被研究得较少,藻席间的蓝藻物种丰富度被大大低估了^[40]。近年来藻席间的蓝藻被报道的与蓝藻毒素和异味物质的相关研究也是越来越多^[41, 42],其潜在的有害种类问题不容忽视,蓝藻分类学的不断修订和分类系统学研究的不断发展为水源地藻类监控和水质监察等重要生态环境应用方面提供了基础生物学支持。

本研究以颤藻目的束鞘丝藻科为例,不仅在我国首次介绍这个新记录科及其下的两新记录属的基本分类信息,更重要的是传递现代蓝藻分类系统重建过程和结果以及发展趋势等方面的新知识。现代蓝藻分类学的发展趋势显示,在科水平上进行修订并成立新的有效分类单元是使科内属水平趋向单系、狭义、高度独立的系统发育位置的重要步骤和最优解决方法^[43],蓝藻分类学在此模块化进展状态

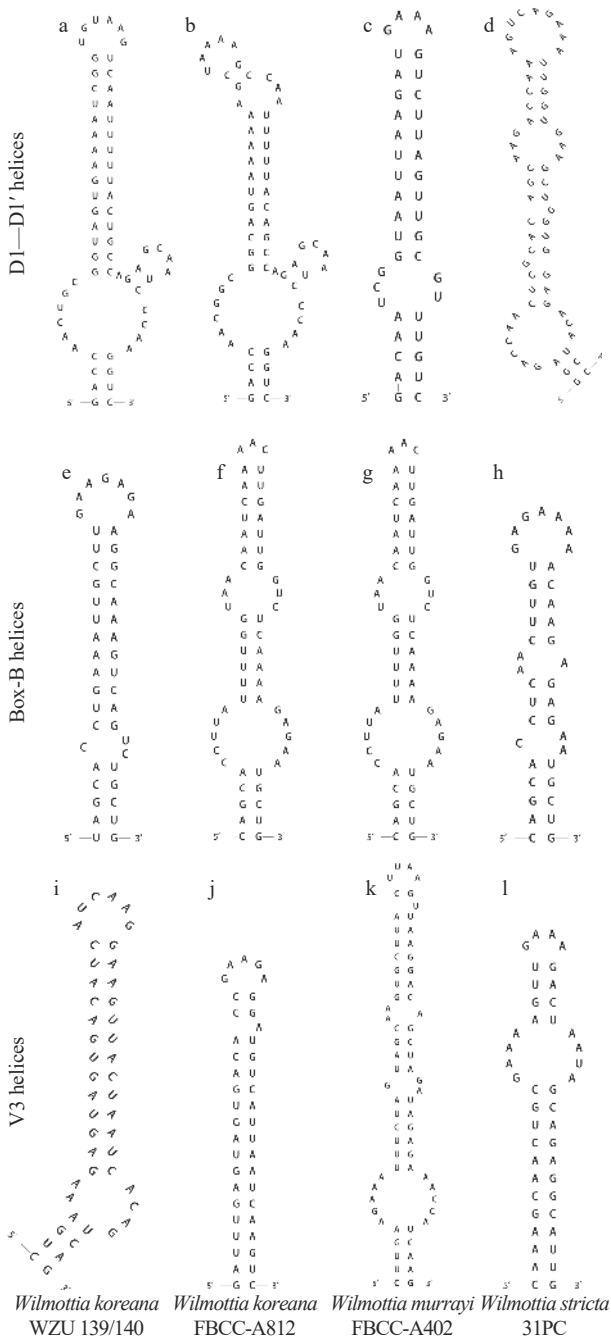


图7 威氏藻属内全部物种的D1—D1'、Box-B、V3螺旋结构

Fig. 7 D1—D1', Box-B and V3helix of *Wilmottia* strains

下,不断地焕发出新的活力,涌现出不同生态环境的新类群,蓝藻分类系统的修订和完善也显得更加有的放矢。期待中国的蓝藻资源宝库在蓝藻分类系统的不断完善下能不断提升多样性和丰富度。

参考文献:

- [1] Whitton B A. Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time [M]. Springer Netherlands, 2012: 1-15.
- [2] Gugger M F, Hoffmann L. Polyphyly of true branching

cyanobacteria (Stigonematales) [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, **54**(2): 349-357.

- [3] Komárek J. Several problems of the polyphasic approach in the modern cyanobacterial system [J]. *Hydrobiologia*, 2018, **811**(1): 7-17.
- [4] Geitler L. Cyanophyceae. [M]//Rabenhorst L (Eds.), Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1932: 1196.
- [5] Wilimotte A. Molecular Evolution and Taxonomy of the Cyanobacteria [M]. The Molecular Biology of Cyanobacteria. Dordrecht: Springer Netherlands, 1994: 1-25.
- [6] Rippka R, Stanier R Y, Deruelles J, *et al.* Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria [J]. *Microbiology*, 1979, **111**(1): 1-61.
- [7] Konstantinos A, Jiří K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 1-Introduction [J]. *Algological Studies/Archiv Für Hydrobiologie*, 1985, **38/39**(suppl.): 291-302.
- [8] Hoffmann L, Komárek J, Kaštovský J. System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) state in 2004 [J]. *Archiv Für Hydrobiologie*, 2005, **117**(suppl.): 95-115.
- [9] Hoffmann L, Komárek J, Kaštovský J. Proposal of cyanobacterial system-2004 [M]//Büdel B, Krienitz L, Gärtner G, *et al.* (Eds.), Süßwasserflora von Mitteleuropa. 2005: 657-660.
- [10] Dvořák P, Pouličková A, Hašler P, *et al.* Species concepts and speciation factors in cyanobacteria, with connection to the problems of diversity and classification [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2015, **24**(4): 739-757.
- [11] Johansen J R, Casamatta D A. Recognizing cyanobacterial diversity through adoption of a new species paradigm [J]. *Archiv Für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 2005(117): 71-93.
- [12] Nowicka-Krawczyk P, Mühlsteinová R, Hauer T. Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria) [J]. *Scientific Reports*, 2019(9): 694.
- [13] Cai F, Wang Y, Yu G, *et al.* Proposal of *Purpurea* Gen. nov. (Nostocales, Cyanobacteria), a novel cyanobacterial genus from wet soil samples in Tibet, China [J]. *Fottea*, 2020, **20**(1): 86-97.
- [14] Osorio-Santos K, Pietrasiak N, Bohunická M, *et al.* Seven new species of *Oculatella* (Pseudanabaenales, Cyanobacteria): taxonomically recognizing cryptic diversification [J]. *European Journal of Phycology*, 2014, **49**(4): 450-470.
- [15] Jiang Y G, Wang Z G, Wang C B. Molecular basis and evolutionary characteristics of cylindrospermopsin biosynthesis [J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition)*, 2022, **50**(3): 47-58. [蒋永光, 王志

- 高, 王纯波. 拟柱孢藻毒素生物合成的分子基础与进化特征 [J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2022, **50**(3): 47-58.]
- [16] Li R H, Cheng Y, Geng R Z, *et al.* Taxonomic separation and combination of cyanobacterial genera *Cylindrospermopsis* and *Raphidiopsis* [J]. *Journal of Henan Normal University* (Natural Science Edition), 2022, **50**(3): 39-46. [李仁辉, 程耀, 耿若真, 等. 蓝藻拟柱孢藻(*Cylindrospermopsis*)和尖头藻(*Raphidiopsis*)的分与合 [J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2022, **50**(3): 39-46.]
- [17] Komarek J, Kastovsky J, Mares J, *et al.* Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach [J]. *Preslia*, 2014, **86**(4): 295-335.
- [18] Martins M D, Machado-de-Lima N M, Branco L H Z. Polyphasic approach using multilocus analyses supports the establishment of the new aerophytic cyanobacterial genus *Pycnacronema* (Coleofasciculaceae, Oscillatoriales) [J]. *Journal of Phycology*, 2019, **55**(1): 146-159.
- [19] Strunecký O, Elster J, Komárek J. Taxonomic revision of the freshwater cyanobacterium “*Phormidium*” murrayi = *Wilmottia murrayi* [J]. *Fottea*, 2011, **11**(1): 57-71.
- [20] Stanier R Y, Kunisawa R, Mandel M, *et al.* Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales) [J]. *Bacteriological Reviews*, 1971, **35**(2): 171-205.
- [21] Neilan B A, Jacobs D, Goodman A E. Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, **61**(11): 3875-3883.
- [22] Edwards U, Rogall T, Blöcker H, *et al.* Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA [J]. *Nucleic Acids Research*, 1989, **17**(19): 7843-7853.
- [23] Gkelis S, Rajaniemi P, Vardaka E, *et al.* *Limnithrix redekei* (van goor) meffert (cyanobacteria) strains from lake kastoria, Greece form a separate phylogenetic group [J]. *Microbial Ecology*, 2005, **49**(1): 176-182.
- [24] Katoh K, Standley D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(4): 772-780.
- [25] Elkins K M. Analysis of Deoxyribonucleic Acid (DNA) Sequence Data Using BioEdit [M]. Forensic DNA Biology. Amsterdam: Elsevier, 2013: 129-132.
- [26] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, **38**(7): 3022-3027.
- [27] Zhang D, Gao F, Jakovlić I, *et al.* PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2020, **20**(1): 348-355.
- [28] Nguyen L T, Schmidt H A, von Haeseler A, *et al.* IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, **32**(1): 268-274.
- [29] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, *et al.* MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. *Systematic Biology*, 2012, **61**(3): 539-542.
- [30] Page R D M. Tree View: an application to display phylogenetic trees on personal computers [J]. *Bioinformatics*, 1996, **12**(4): 357-358.
- [31] Itean I, Rippka R, Tandeau de Marsac N, *et al.* Comparison of conserved structural and regulatory domains within divergent 16S rRNA-23S rRNA spacer sequences of cyanobacteria [J]. *Microbiology (Reading, England)*, 2000, **146**(6): 1275-1286.
- [32] Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, **31**(13): 3406-3415.
- [33] Lee N J, Seo Y, Ki J S, *et al.* Morphology and molecular description of *Wilmottia koreana* sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria) isolated from the Republic of Korea [J]. *Phytotaxa*, 2020, **447**(4): 237-251.
- [34] Giovannoni S J, Turner S, Olsen G J, *et al.* Evolutionary relationships among cyanobacteria and green chloroplasts [J]. *Journal of Bacteriology*, 1988, **170**(8): 3584-3592.
- [35] Komárek J, Johansen J R, Šmarda J, *et al.* Phylogeny and taxonomy of *Synechococcus*-like cyanobacteria [J]. *Fottea*, 2020, **20**(2): 171-191.
- [36] Siegesmund M A, Johansen J R, Karsten U, *et al.* *Coleofasciculus* Gen. nov. (cyanobacteria): morphological and molecular criteria for revision of the genus *Microcoleus* gomont (1) [J]. *Journal of Phycology*, 2008, **44**(6): 1572-1585.
- [37] Thu N K, Tanabe Y, Yoshida M, *et al.* *Aerosakkonema funiforme* Gen. et sp. nov. (Oscillatoriales), a new gas-vacuolated oscillatoroid cyanobacterium isolated from a mesotrophic reservoir [J]. *Phycologia*, 2012, **51**(6): 672-683.
- [38] Komárek J, Zapomělová E, Šmarda J, *et al.* Polyphasic evaluation of *Limnoraphis robusta*, a water-bloom forming cyanobacterium from Lake Atitlán, Guatemala, with a description of *Limnoraphis* Gen. nov [J]. *Fottea*, 2013, **13**(1): 39-52.
- [39] Berthold D E, Lefler F W, Laughinghouse H D. Untangling filamentous marine cyanobacterial diversity from the coast of South Florida with the description of Vermifilaceae fam. nov. and three new Genera: *Leptochromothrix* Gen. nov., *Ophiophycus* Gen. nov., and *Vermifilum* Gen. nov [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2021(160): 107010.

- [40] Hašler P, Casamatta D, Dvořák P, *et al.* *Jacksonvillea apiculata* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) Gen. & sp. nov. : a new genus of filamentous, epipsamic cyanobacteria from North Florida [J]. *Phycologia*, 2017, **56**(3): 284-295.
- [41] Pham T L, Bui M H, Driscoll M, *et al.* First report of geosmin and 2-methylisoborneol (2-MIB) in *Dolichospermum* and *Oscillatoria* from Vietnam [J]. *Limnology*, 2021, **22**(1): 43-56.
- [42] Cai F, Yu G, Zhang K, *et al.* Geosmin production and polyphasic characterization of *Oscillatoria limosa* Agardh ex Gomont isolated from the open canal of a large drinking water system in Tianjin City, China [J]. *Harmful Algae*, 2017(69): 28-37.
- [43] Moreira C Fernandes V, Giraldo-Silva A, Roush D, *et al.* Coleofasciculaceae, a monophyletic home for the *Microcoleus steenstrupii* complex and other desiccation-tolerant Filamentous Cyanobacteria [J]. *Journal of phycology*. 2021(57): 1563-1579.

TAXONOMIC NOTES ON COLEOFASCICULACEAE (OSCILLATORIALES, CYANOBACTERIA), A NEWLY RECORDED CYANOBACTERIA FAMILY IN CHINA

HU Chao-Wen¹, ZHANG Rong-Zhen², ZHANG He¹, XIAO Peng¹, LI Ren-Hui¹, GENG Ruo-Zhen¹ and CHENG Yao¹

(1. College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China; 2. Wenzhou Shanxi Hydro-junction Management Center, Wenzhou 325000, China)

Abstract: Along the rapid development of molecular biology technology, the cyanobacterial taxonomy is also experiencing great development and improvement, and many novel cyanobacterial taxa from different ecosystems were described. Coleofecosciculaceae is a new family established by Komárek *et al.* in 2014, which was separated from the *Microcoleus*-like group. However, the taxonomic studies and basic knowledge of this family are not involved in China. In this study, four filamentous cyanobacteria were successfully isolated from the microbial mats samples collected in Zhejiang Province, China. These strains were morphologically similar to the species of the family Coleofasciculaceae. The molecular characteristics and phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene and 16S—23S ITS secondary structure showed that these strains formed well-supported phylogenetic evolutionary clades with *Pycnacronema* and *Wilmottia*, respectively. We used a method combination of all evidence composed of molecular characters, morphological, and ecophysiological data for taxa delimitation of *Pycnacronema* and *Wilmottia*. The family Coleofasciculaceae was firstly recorded here in China, and *Pycnacronema* and *Wilmottia*, were also the new recorded genera in China. In this paper, the result not only describes the history of the family Coleofasciculaceae but also introduces and discusses the modern cyanobacterial taxonomic system including its on-going process, current results and development trend. These positive results can greatly advance the progress of cyanobacterial taxonomy and increase the abundance of cyanobacterial species in China.

Key words: Cyanobacteria; Coleofasciculaceae; New recorded family; Taxonomy; Phylogenetic