

doi: 10.7541/2023.2022.0160

古尔班通古特沙漠生物结皮微鞘藻分类学研究

刘燕晋^{1,2} 李凯凯^{1,2} 张雅丽^{1,2} 赵康³ 张丙昌^{1,2}

(1. 山西师范大学地理科学学院, 太原 030031; 2. 山西师范大学黄河中游生态环境研究中心, 太原 030031;
3. 山西师范大学生命科学学院, 太原 030031)

摘要: 实验研究了从古尔班通古特沙漠生物土壤结皮中分离纯化培养出的11株与微鞘藻(*Microcoleus*)形态接近的丝状蓝藻, 通过形态特征、16S rRNA和ITS二级结构相结合的多相分析方法对其进行分类学研究。研究表明, 实验藻株隶属于微鞘藻科(*Microcoleaceae*)的微鞘藻属(*Microcoleus*)和束脉藻属(*Symplocastrum*), 其中包括2个中国新记录种: 斯坦微鞘藻(*Microcoleus steenstrupii*)和细长束脉藻(*Symplocastrum flechtnerii*), 另外还有具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*)和类似斯坦微鞘藻的存疑物种。藻丝多少与排列方式、细胞大小与末端细胞形状, 以及16S rRNA系统发育位置是确定微鞘藻(*Microcoleus*)与束脉藻(*Symplocastrum*)属于不同物种的关键依据, ITS二级结构是区分属内不同物种的重要参考。

关键词: 生物结皮; 微鞘藻; 形态特征; 16S rRNA; ITS

中图分类号: Q949.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)07-1106-09



在荒漠生境中, 蓝藻是生物结皮形成和发育的先锋生物和重要光合微生物类群^[1, 2], 它们在维系地表稳定性、促进养分积累、改善土壤结构、保持土壤水分和促进植被演替等方面均发挥着重要的生态功能^[3]。微鞘藻(*Microcoleus*)是全球荒漠生物结皮蓝藻中最普遍的优势物种, 通过藻丝的捆绑作用和胞外多糖的黏结作用形成生物结皮, 在生物结皮的形成和群落演替中均发挥着重要功能^[4]。具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*)是全球荒漠生物结皮中的核心物种, 该物种既是广布种又是优势种, 可分泌大量的胞外多糖形成胶鞘, 胶鞘内具大量的藻丝, 在生物结皮形成中发挥着关键作用^[5]。在沙坡头地区和古尔班通古特沙漠中, 基于形态特征和高通量测序的研究结果均表明微鞘藻是生物结皮的关键物种^[6, 7]。*Coleofasciculus chthonoplastes*和*Microcoleus steenstrupii*等也是生物结皮中的常见物种^[8]。

微鞘藻属(*Microcoleus*)最早被Gomont描述, 模式物种是具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*), 在形态特征上, 模式物种具鞘微鞘藻公共胶鞘中包含数十根甚至上百根藻丝呈平行和密集排列, 具有细胞

分裂和类囊体排列特征, 丝状体锥形, 细胞等径或短于长, 末端具帽状体^[9]。我国学者胡鸿钧等^[10]在《中国淡水藻类》将微鞘藻属归为颤藻科(*Oscillatoriaceae*)。Büdel等^[11]将其归为席藻科(*Phormidiaceae*)微鞘藻亚科(*Microcoleoideae*)。除具鞘微鞘藻外, 微鞘藻属的其他多数物种的细胞分裂和类囊体结构与席藻科类似^[12]。根据最新研究结果, 胡鸿钧和魏印心^[13]在《中国淡水藻类-系统、分类及生态》将微鞘藻属归为席藻科。Strunecký等^[14]对来自不同区域的92株具鞘微鞘藻和*Phormidium autumnale*(后更名为*Microcoleus autumnalis*)进一步研究发现, 它们单独聚在一个进化支中, 与席藻科所在分支有较远的进化距离, 在此基础上进一步提出微鞘藻科(*Microcoleaceae*), 模式属为微鞘藻属, 模式种是具鞘微鞘藻。在近期研究中, 发现微鞘藻科(*Microcoleaceae*)中还有*Kamptomena*、*Microcoleusiosis*等其他属^[15, 16]。Boyer等^[9]研究了沙漠土壤中的31株微鞘藻, 16S rRNA和16S—23S ITS结果表明, 具鞘微鞘藻与*Trichodesmium*、节旋藻属(*Arthrospira*)的序列更相似, *Microcoleus steenstrupii*与席

收稿日期: 2022-04-16; 修订日期: 2022-06-30

基金项目: 国家自然科学基金(42271067和U2003214)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (42271067 and U2003214)]

作者简介: 刘燕晋(1999—), 女, 硕士研究生; 主要研究方向为生态学。E-mail: liuyanjin13@163.com

通信作者: 张丙昌(1972—), 男, 教授; 主要研究方向为生物结皮与土壤微生物。E-mail: 20170031@sxnu.edu.cn

藻科的几个属聚在一起, 认为具鞘微鞘藻和 *M. steenstrupii* 应隶属于两个不同的属。原隶属于颤藻科的原型微鞘藻 (*Microcoleus chthonoplastes*) 和集合微鞘藻 (*Microcoleus sociatus*), 分别被立为 *Coleofasciculaceae* 的两个新属: *Coleofasciculus* 和 *Funiculus*^[17]。

在古尔班通古特沙漠中, 研究发现生物结皮中存在一些与具鞘微鞘藻 (*Microcoleus vaginatus*) 形态近似但又具有一定差别的藻株, 尚不能确定其分类关系。本研究对培养获取的微鞘藻 (*Microcoleus*) 及其相近藻株, 从形态结构、16S rRNA 分子序列和 ITS 二级结构对其进行系统研究, 以期丰富对荒漠蓝藻物种多样性的认识。

1 材料与方法

1.1 实验室藻种培养

生物结皮样品均来自古尔班通古特沙漠。称取 5 g 生物结皮样品研磨, 用无菌蒸馏水稀释至 1000 倍, 然后接种到 BG11 固体培养基的培养皿中, 封口膜封口, 置于光照培养箱中, 培养条件为 25℃、4000 lx、光照/黑暗时间为 16h/8h。培养 3—4 周, 在显微镜下初步观察, 然后在解剖镜和显微镜下对微鞘藻 (*Microcoleus*) 藻株进行纯化分离, 获取纯藻株, 藻株保存在山西师范大学实验室; 最后在生物数码显微镜 (尼康 Ci-S) 对纯化分离的藻株进行显微观察并拍照。

1.2 形态鉴定及记录

对观察的藻类以及拍摄的图片, 根据群落和群体形态、有无胶被、细胞大小、细胞壁间有无缢缩、细胞壁颗粒、末端细胞形态与大小等特点, 参照朱浩然主编的《中国淡水藻志》第九卷进行物种鉴定^[18]。

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

采用 UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (MOBIO, Carlsbad, CA, USA) 提取藻类 DNA, 方法按试剂盒说明进行。利用引物 CYA106F (5'-CGGACGGGTGAGTAACGCGTGA-3') 和 WAW1486R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') 扩增 16S rRNA^[19], 1407F (5'-TGTACACACCGCCCGTC-3') 和 B23SR (5'-CTCTGTGTGCCTAGGTATCC-3') 扩增 ITS 序列^[20], 引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系为 20 μ L, 包括 Mix 酶 10 μ L, 正向引物和反向引物均为 0.5 μ L (浓度 0.01 mmol/L), 模板 DNA 2 μ L, ddH₂O 7 μ L。16S rRNA 扩增条件为: 94℃ 预变性 5min; 94℃ 变性 30s, 59℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 90s, 共 35 次循环; 72℃ 延伸 10min。ITS 扩

增条件为: 95℃ 预变性 5min; 95℃ 变性 1min, 55℃ 退火 45s, 72℃ 延伸 4min, 共 35 次循环; 72℃ 延伸 5min。将 PCR 扩增产物用 1% 的琼脂糖水平电泳检测其质量并切胶, 然后用胶回收试剂盒 (OMEGA) 回收 PCR 产物。

1.4 TA 克隆

采用 Peasy-T1 Cloning Kit 克隆试剂盒进行克隆, 方法参照试剂盒说明, 完成操作后将涂有转化菌液的培养皿置入 4℃ 冰箱。待培养基出现白色菌斑后, 随机挑取 3 个白色菌斑, 分别置于 1.5 mL EP 离心管中, 加入 600 μ L 含有氨苄青霉素的液体 LB 培养基, 在 200 r/min、37℃ 的摇床中培养 10h 以上。取 2 μ L 菌液进行 PCR 扩增检测, 选择阳性克隆子, 取 20 μ L 培养菌液测序。

1.5 测序及分子系统分析

测序由上海生工生物工程有限公司完成。本研究选择微鞘藻科 11 株藻的 16S rRNA 基因序列, 并根据 NCBI 数据库比对结果选择同源相似性系数高的已知序列作为参考序列, 利用 Bioedit (7.0.5) 软件对实验和参考序列进行比对, 剪切两端不整齐的序列^[21]; 采用 MEGA 5.02 软件对所有序列进行对齐排列, 然后基于 Neighbor-Joining 模型和 Maximum Likelihood 模型, 自展值 (Bootstrap value) 设为 1000, 空位或缺失位点均当作配对删除 (Pairwise deletion) 处理, 选取 11 属 53 条有效序列, 以 *Gloeobacter violaceus* PCC 8105 为外类群构建 16S rRNA 系统进化树^[22]。对于 ITS 二级结构, 在相同的 tRNA 水平上进行比较, 采用 Microsoft Word 手动比对找出其 D1-D1'、Box-B、V3 螺旋和 Box-A 序列, 然后使用 RNAstructure Version 5.6 软件分别构建 D1-D1'、Box-B、V3 螺旋结构^[23]。

2 结果

2.1 形态学特征

从生物结皮中分离纯化出 11 株藻, 形态特征如下 (图 1)。

中国新记录种 细长束脉藻 (*Symplocastrum flechtnerii*) Pietrasiak & Mülhsteinová^[24]

形态描述: 藻体蓝绿色, 在固体培养基表面匍匐生长, 藻体弯曲或平直; 藻丝具鞘, 无色, 鞘初期薄, 后期变宽为 1.13—2.52 μ m; 丝状体等极, 在细胞壁间有缢缩, 细胞长大于宽, 宽 3.33—3.62 μ m, 长 6.66—6.80 μ m, 细胞内无颗粒体; 末端细胞钝圆或圆锥形, 长 6.43—7.87 μ m (图 1a—c)。

实验藻株: 46-10B、55-3-1、53-3-4B。

采样地区: 中国新疆古尔班通古特沙漠。

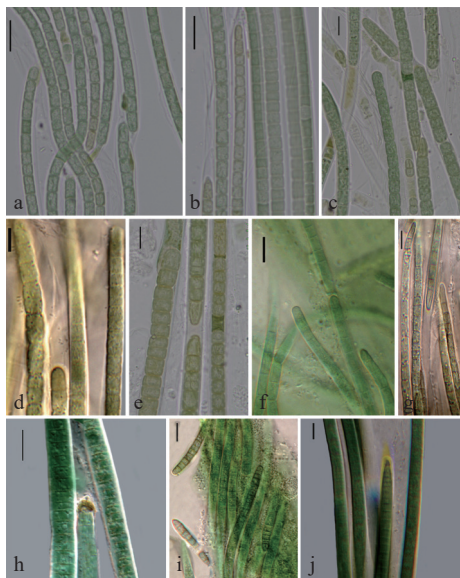


图1 古尔班通古特沙漠微鞘藻科(Microcoleaceae)藻株形态
Fig. 1 Algae strains morphology of Microcoleaceae in Gurban-tunggut Desert

a—c. 细长束脉藻(*Symplocastrum flechtnerii*); d, e. 斯坦微鞘藻(*Microcoleus steenstrupii*); f, g. 微鞘藻属(*Microcoleus* sp.); h—j. 具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*); 图中比例尺=10 μm

中国新记录种 斯坦微鞘藻(*Microcoleus steenstrupii*) Petersen^[25]

形态描述: 植物体蓝绿色, 片状扁平, 藻体匍匐生长, 有时深入培养基内; 丝状体藻丝排列松散; 藻丝黄绿色, 不分枝, 多数具鞘, 无色, 鞘厚0.91—2.21 μm; 丝状体等极, 藻丝细胞宽5.92—7.35 μm, 长4.65—9.17 μm, 细胞壁两侧无或略有缢缩, 细胞内具颗粒体, 末端细胞钝圆或圆锥形, 长6.03—10.55 μm(图1d, e)。

实验藻株: 136-1-1、CXA019。

采样地区: 中国新疆古尔班通古特沙漠。

微鞘藻(*Microcoleus* sp.) Strunecký & Komárek^[14]

形态描述: 藻体在固体培养基表面上匍匐生长, 呈蓝绿色, 不深入培养基内部, 藻丝无分枝; 藻丝具鞘, 鞘坚硬, 无色, 开放, 鞘内含有1—2根藻丝; 藻丝等极, 在细胞壁两侧无缢缩; 细胞宽3.88—4.32 μm, 长4.34—9.65 μm, 内含有颗粒体; 末端细胞钝圆、圆锥形, 长6.53—10.55 μm(图1f, CXA013; 图1g, CXA020)。

实验藻株: CXA020、CXA013。

采样地区: 中国新疆古尔班通古特沙漠。

具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*) Gomont^[26]

形态描述: 藻体在新鲜固体培养基中呈蓝绿色, 藻体丝状, 生长在固体培养基表面, 有数十根甚至上百根藻丝呈束状或绳索状排列在一起, 具明显

公共胶鞘; 单根藻丝也具鞘, 厚度在0.52—1.10 μm; 细胞宽为4.10—5.45 μm, 长为2.70—4.60 μm; 细胞壁间无缢缩, 细胞壁两侧多具颗粒体; 末端细胞长4.20—6.26 μm, 钝圆或圆锥形, 具有帽状体(图1h—j)。

实验藻株: 98-2-3、CXA007、CXA021、CXA023。

采样地区: 中国新疆古尔班通古特沙漠。

2.2 基于16S rRNA基因序列的系统进化分析

16S rRNA基因的NJ系统进化树(图2)结果表明, 分子系统发育树可分为A和B两个系统进化支: A进化支中实验藻株46-10B、55-3-1、53-3-4B与参考藻株*Symplocastrum flechtnerii* WJT32-NPBGF、*S. torsivum* CPER-KK1、*S. californicum* WJT9-NPBG9聚为A1-1-1分支, 实验藻株之间的序列同源相似性系数均大于99%, 表明46-10B、55-3-1、53-3-4B应为同一物种, 实验藻株与3个参考藻株的序列同源相似性系数为98.7%—99.6%, 说明实验藻株与参考藻株有很近的亲缘关系。藻株136-1-1、CXA019与*Microcoleus steenstrupii*的5株参考藻株聚在A1-1-4分支, 与参考序列同源相似性系数超过99%, 这表明藻株136-1-1、CXA019应属于*M. steenstrupii*。实验藻株CXA020与CXA019、136-1-1所在的分支互为姐妹群, 它们之间的序列同源相似性系数为96.8%—97.7%, 表明CXA020不隶属于*M. steenstrupii*, 但属于微鞘藻属(*Microcoleus*)。CXA013在系统树上与A1-1分支互为姐妹群, 并且与*Symplocastrum*、*Pycnacronema*、*M. steenstrupii*参考藻株的序列同源相似性系数在96.7%—97.9%。实验藻株CXA007、CXA021、98-2-3、CXA023聚在B进化支中, 与具鞘微鞘藻(*M. vaginatus*)的16个参考序列聚为一支, 序列同源相似性系数均在99.3%—100%, 具有高度的同源性, 说明4个实验藻株隶属于具鞘微鞘藻。ML系统进化树结果与NJ系统进化树基本一致, 其主要区别为参考藻株*S. flechtnerii* WJT32-NPBGF、*S. torsivum* CPER-KK1在谱系位置上的互换, *S. torsivum* CPER-KK与实验藻株46-10B、55-3-1、53-3-4B表现出更近的亲缘关系; 另外, *Wilmottia murrayi*进化支与*Symplocastrum*、*Pycnacronema*和部分*M. steenstrupii*聚为一支, 且与*M. steenstrupii*系统进化支互为姐妹群。

2.3 ITS二级结构

通过对11株实验藻株的ITS基因构建二级结构(D1-D1'、Box-B、Box-A和V3)用以区分同属间不同种。

D1-D1'螺旋, 实验藻株46-10B、55-3-1、53-3-4B(均由53 bp构成)的顶部两个环与参考藻株*Sym-*

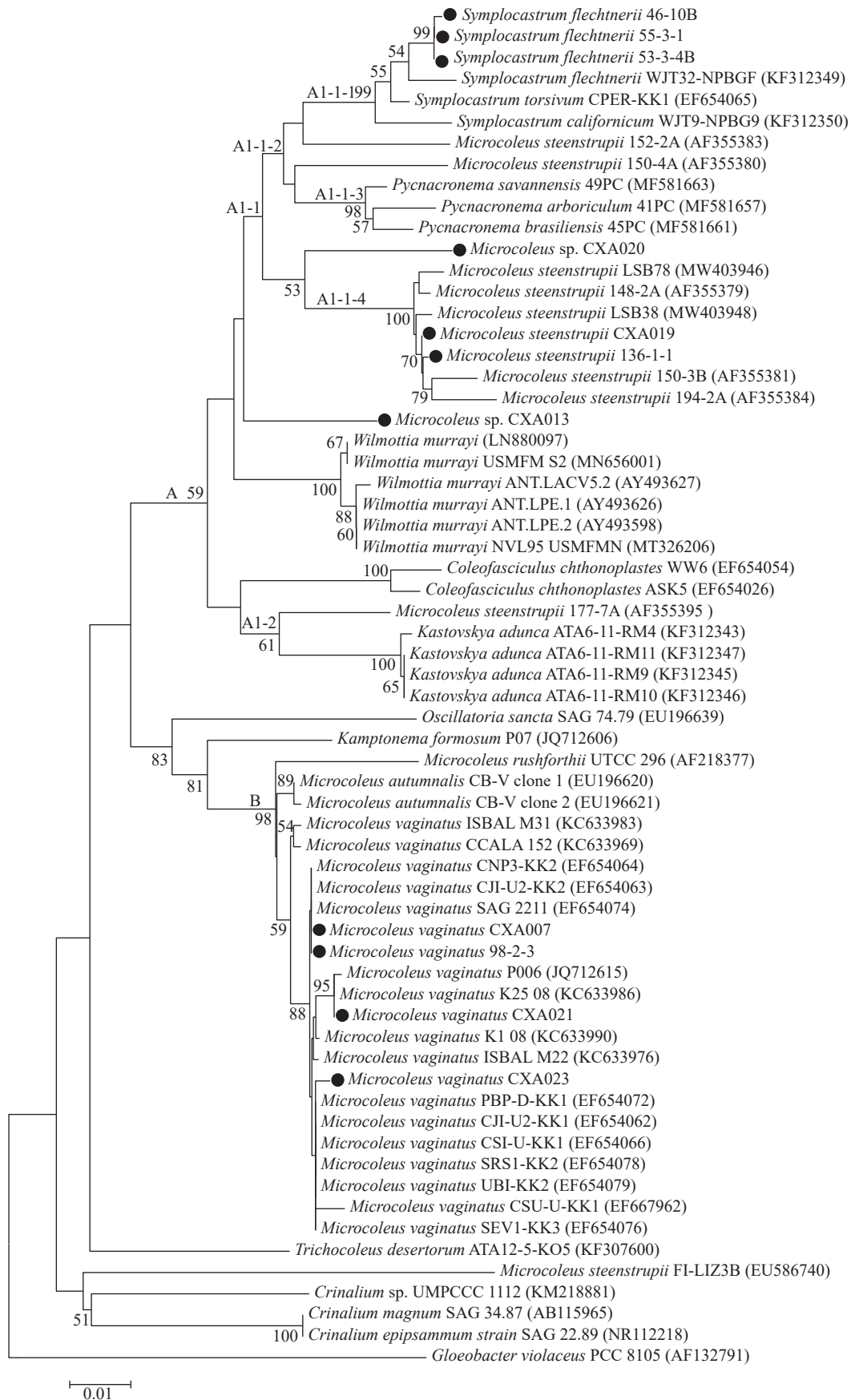


图2 古尔班通古特沙漠微鞘藻科(Microcoleaceae)藻株基于16S rRNA基因的系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene of algae strains of Microcoleaceae in Gurbantunggut Desert

plocastrum flechtnerii WJT32-NPBGF(53 bp)、*S. californicum* WJT9-NPBGF(53 bp)相同,但底部大环与参考藻株*S. torsivum* CPER-KK1(53 bp)基本相同。实验藻株CXA019(65 bp)、136-1-1(65 bp)和CXA020(60 bp)的环状结构与参考藻株*Microcoleus steenstrupii* LSB38(65 bp)近似;藻株CXA020和CXA013(70 bp)的基部茎均包含5 bp螺旋(5'-GACCU-AGGUC-3')。实验藻株CXA021、CXA023、CXA007和98-2-3的螺旋结构有一定的差异,但碱基数与参考序列*M. vaginatus* CSC-U-KK1相同,均由57 bp构成(图3)。Box-A螺旋,实验藻株均具12 bp,序列均为5'-GAACCTTGAAAA-3',但CXA013序列第二位点的碱基A被C替换。V3螺旋在*S. flechtnerii*、*M. steenstrupii*、*M. vaginatus*和*Microcoleus* sp.之间存在明显差异,但种内差异非常小(图5)。

(37 bp)与参考藻株*Pycnacronema arboricolum* 41PC(36 bp)具相同的基茎(5'-AGCAUGCU-3')。参考藻株*M. vaginatus* SRS1-KK2(48 bp)的螺旋结构与实验藻株98-2-3(48 bp)完全相同,与CXA023(38 bp)、CXA021(41 bp)类似,但与CXA007(20 bp)具有较大差异(图4)。Box-A螺旋,实验藻株均具12 bp,序列均为5'-GAACCTTGAAAA-3',但CXA013序列第二位点的碱基A被C替换。V3螺旋在*S. flechtnerii*、*M. steenstrupii*、*M. vaginatus*和*Microcoleus* sp.之间存在明显差异,但种内差异非常小(图5)。

3 讨论

微鞘藻(*Microcoleus*)的典型特征是多根藻丝聚集在一起,外有公共胶鞘,藻丝排列紧密,在湿润条件下,藻丝可在胶鞘内游动;藻丝末端细胞尖细或钝圆,少数圆锥形或具帽状体^[27]。具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*)作为微鞘藻属的模式物种,形态变异很小,单根藻丝多具胶鞘,藻丝细胞宽大于长,细胞壁间无缢缩,末端细胞钝圆或具帽状体^[9]。

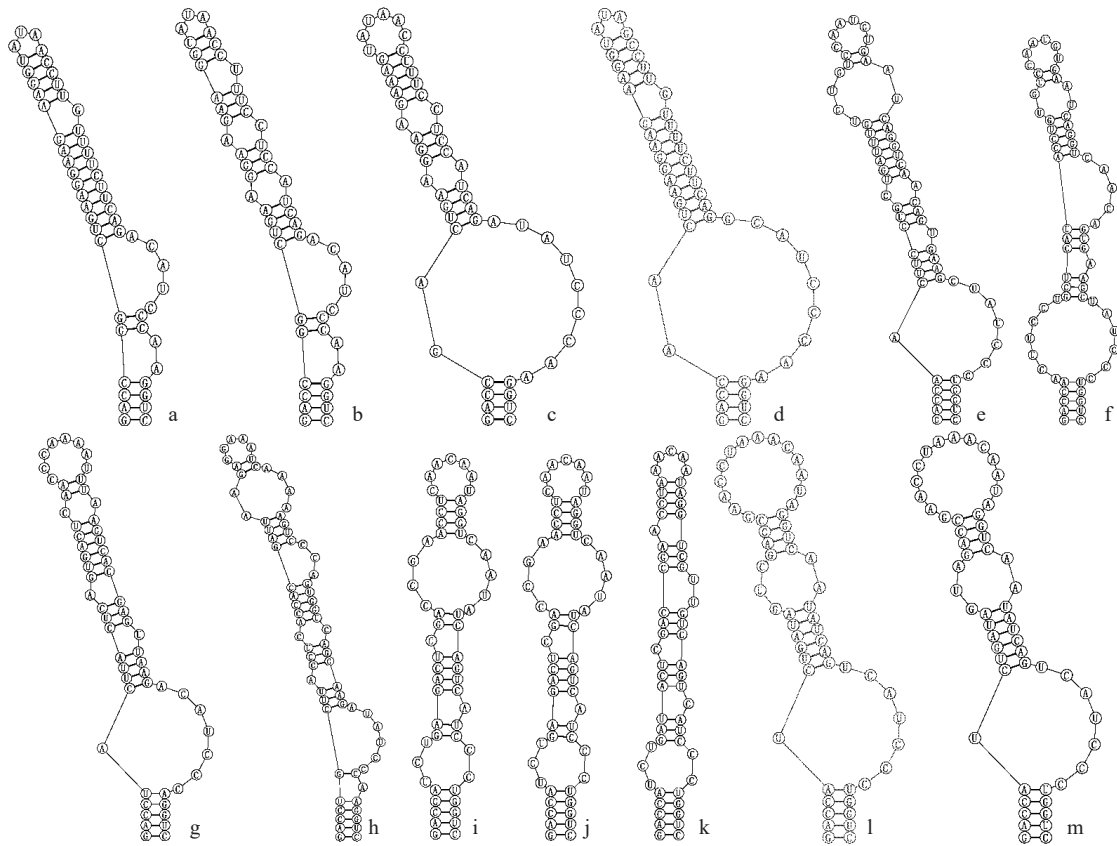


图3 古尔班通古特沙漠微鞘藻科(Microcoleaceae)藻株的D1-D1'螺旋结构

Fig. 3 D1-D1' helix structure of algae strains of Microcoleaceae in Gurbantunggut Desert

a. *Symplocastrum flechtnerii* WJT32-NPBGF; b. *S. californicum* WJT9-NPBGF; c. *S. torsivum* CPER-KK1; d. *S. flechtnerii* 46-10B, 55-3-1 and 53-3-4B; e. *Microcoleus steenstrupii* LSB38; f. *M. steenstrupii* CXA019 and 136-1-1; g. *Microcoleus* sp. CXA020; h. *Microcoleus* sp. CXA013; i. *Microcoleus vaginatus* CSC-U-KK1; j. *M. vaginatus* CXA021; k. *M. vaginatus* CXA023; l. *M. vaginatus* CXA007; m. *M. vaginatus* 98-2-3

在本研究中,实验藻株CXA007、CXA021、CXA023和98-2-3形态特征具备典型的具鞘微鞘藻特征,16S rRNA系统发育树结果表明其与具鞘微鞘藻参考藻株单独聚在一支,且与参考藻株有相似的16S-23S ITS二级结构。*Microcoleus steenstrupii*的胶鞘内具多根藻丝符合微鞘藻属的基本特征,与具鞘微鞘藻主要区别是藻落黄绿色,藻丝细胞细长(长3—8 μm ,宽3—5 μm),细胞壁间略有缢缩,顶端细胞长圆筒状,无帽状体^[25]。*M. steenstrupii*也是荒漠生境中的常见物种,实验藻株CXA019、136-1-1的形态特征,16S rRNA系统发育树和ITS二级结构均表明它们与*M. steenstrupii*特征相吻合,因其在国内研究文献中

尚未报道,将其拟命名为“斯坦微鞘藻”。近年来分子生物学研究数据表明微鞘藻属是一个多系属,具鞘微鞘藻的藻株与斯坦微鞘藻(*M. steenstrupii*)分为两个明显不同的系统进化支,具鞘微鞘藻分支与*Phormidium autumnale*(后更名为*Microcoleus autumnalis*)的亲缘关系更相近,而斯坦微鞘藻基因序列与*M. chthonoplastes*(后更名为*Coleofasciculus chthonoplastes*)可能存在更近的亲缘关系,表明它们隶属两个不同的分类群^[9]。在本研究中,斯坦微鞘藻与具鞘微鞘藻聚为A、B两个不同的分支,斯坦微鞘藻所在分支与*Symplocastrum*、*Pycnacronema*、*Kastovskya*、*Wilmottia*、*Crinalium*均表现出

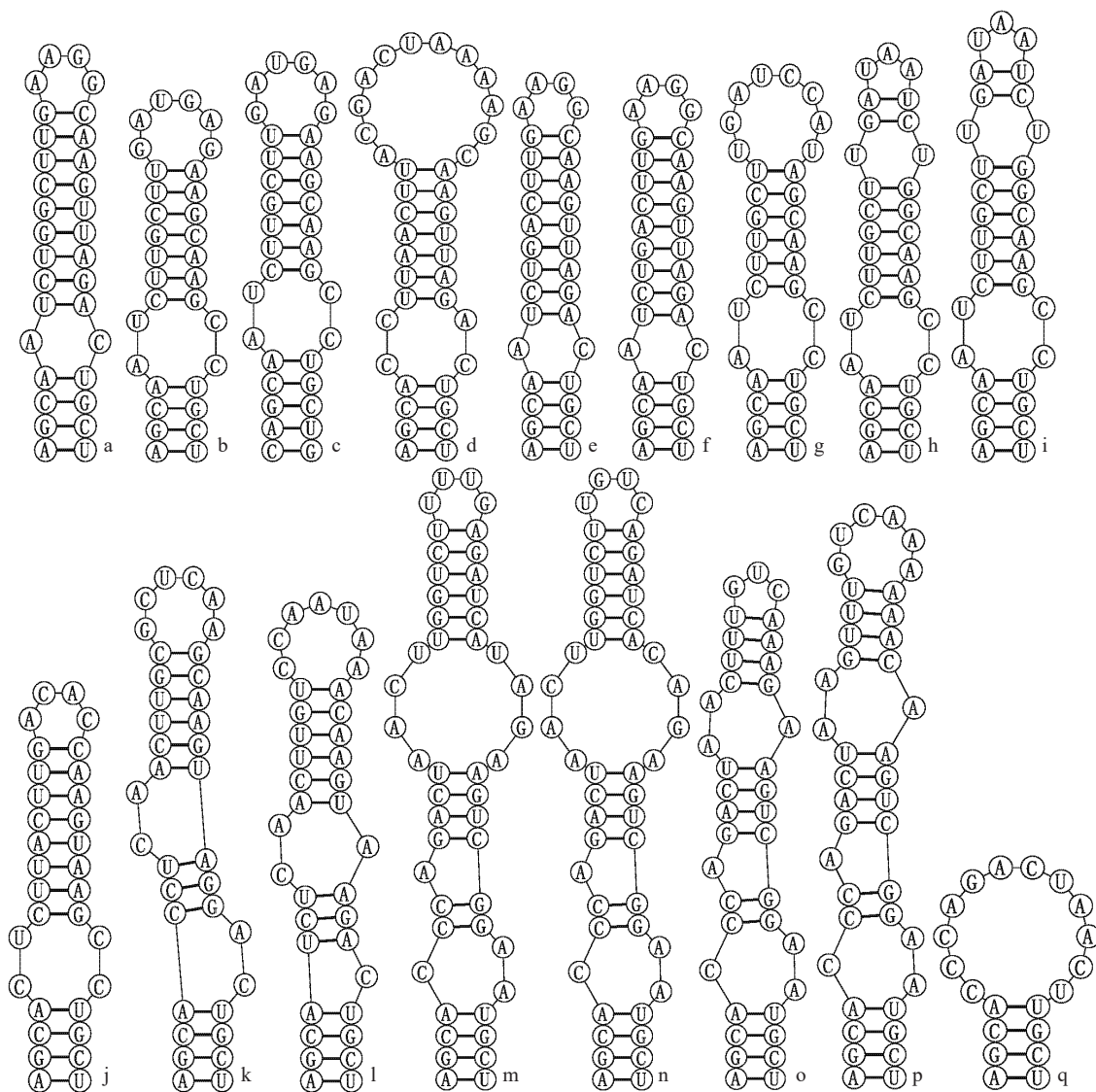


图4 古尔班通古特沙漠微鞘藻科(Microcoleaceae)藻株的Box-B螺旋结构

Fig. 4 Box-B helix structure of algae strains of Microcoleaceae in Gurbantunggut Desert

a. *Symplocastrum flechtnerii* WJT32-NPBGf; b. *S. californicum* WJT9-NPBG9; c. *S. torsivum* CPER-KK1; d. *S. flechtnerii* 46-10B; e. *S. flechtnerii* 55-3-1; f. *S. flechtnerii* 53-3-4B; g. *Microcoleus steenstrupii* LSB38; h. *M. steenstrupii* CXA019; i. *M. steenstrupii* 136-1-1; j. *Microcoleus* sp. CXA020; k. *Pycnacronema arboriculum* 41PC; l. *Microcoleus* sp. CXA013; m. *Microcoleus vaginatus* SRS1-KK2; n. *M. vaginatus* 98-2-3; o. *M. vaginatus* CXA023; p. *M. vaginatus* CXA021; q. *M. vaginatus* CXA007

最近的谱系发育关系。根据目前研究 *Pycnaronema*、*Kastovskya*、*Wilmottia* 均属于 *Coleofasciculaceae*^[27]。16S rRNA 系统发育树和 ITS 二级结构表明, 斯坦微鞘藻可能属于微鞘藻之外的一个新属, 但有待于进一步证实。

Symplocastrum 植物体垫状, 公共胶鞘内有 1—2 (3) 平行排列的藻丝, 细胞宽 (2—) 4—14 (—18) μm , 等径或稍长或稍短于宽, 横壁处缢缩, 藻丝末端没有帽状体^[28]。该属与微鞘藻属 (*Microcoleus*) 的本质区别是 *Symplocastrum* 公共胶鞘内仅有少数平行藻丝, 胶鞘薄; 而微鞘藻属则是公共胶鞘内具多根藻丝^[29]。实验藻株 46-10B、55-3-1 和 53-3-4B 在琼脂上具有类似羽毛状的铺垫展, 丝状体具胶鞘, 公共胶鞘内仅有少数或一根藻丝, 鞘宽大而柔软, 在形态上具有 *Symplocastrum* 的典型特征。在 16S rRNA 序列上, 3 个实验藻株与参考藻株 *Symplocastrum torsivum* CPER-KK1、*S. flechtnerii* WJT32-NPBGF 和 *S. californicum* WJT9-NPBGF 聚为一支, 并且具

极高的序列同源相似性 (98.7%—99.6%), 同时, 藻株 55-3-1、53-3-4B 的 D1-D1'、Box-B 和 V3 螺旋结构与参考藻株 *S. flechtnerii* WJT32-NPBGF 相似。根据形态特征、16S rRNA 和 ITS 二级结构, 本研究认为实验藻株 55-3-1、46-10B 和 53-3-4B 属于 *S. flechtnerii*。而 *Symplocastrum* 和 *Symplocastrum flechtnerii* 分别是中国新记录属和新记录种, *Symplocastrum* 拟命名为束脉藻属, *Symplocastrum flechtnerii* 拟命名为细长束脉藻。

Gomont^[26] 最初将束脉藻属 (*Symplocastrum*) 描述为裂须藻属 (*Schizothrix*), 隶属裂须藻科 (*Schizotrichaceae*)。然而, 近期形态特征和分子序列数据表明, 束脉藻属于席藻科 (*Phormidiaceae*) 微鞘藻亚科 (*Microcoleoideae*)^[24]。16S rRNA 系统发育树结果表明, 束脉藻属与斯坦微鞘藻 (*Microcoleus steenstrupii*)、*Kastovskya*、席藻 (*Phormidium*) 聚在一个系统进化支^[24]。本研究结果还发现束脉藻属与 *Coleofasciculaceae* 的 *Pycnaronema*、*Wilmottia*、*Co-*

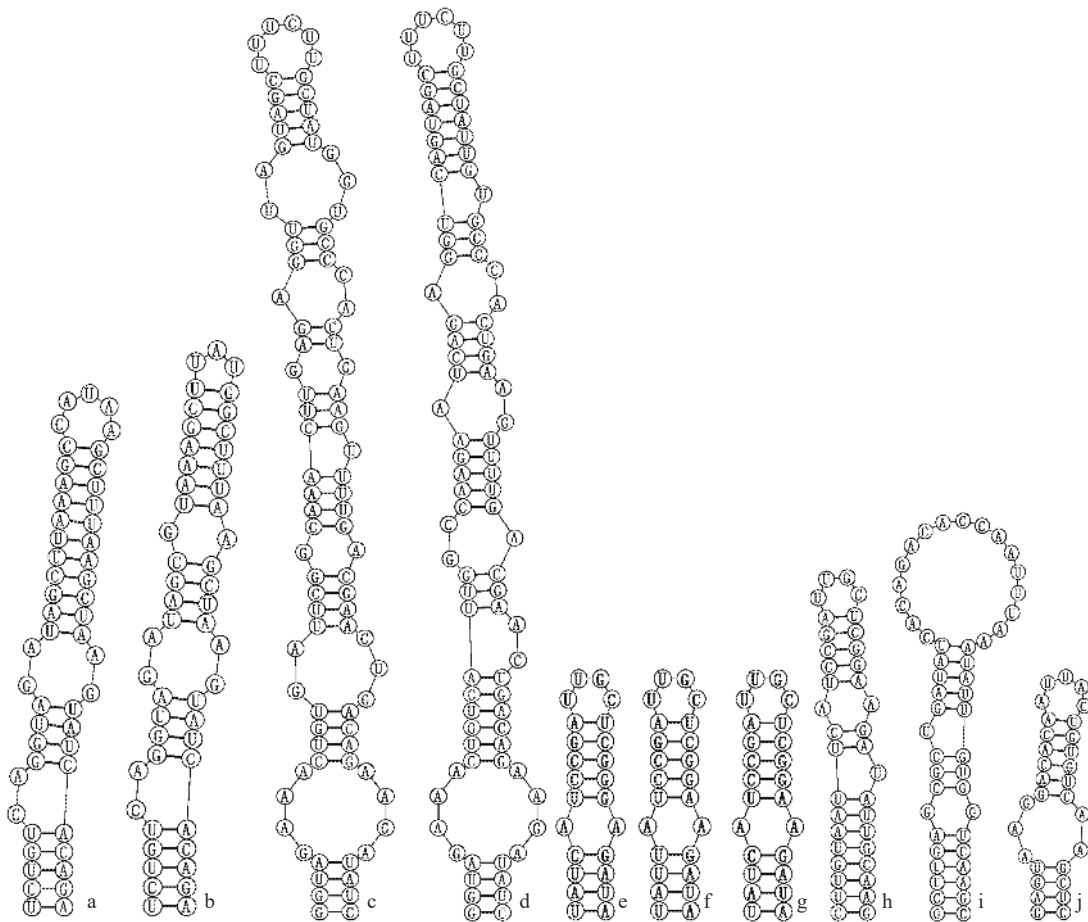


图 5 古尔班通古特沙漠微鞘藻科 (*Microcoleaceae*) 藻株的 V3 螺旋结构

Fig. 5 V3 helix structure of algae strains of *Microcoleaceae* in Gurbantunggut Desert

a. *Symplocastrum flechtnerii* WJT32-NPBGF; b. *S. flechtnerii* 46-10B、55-3-1、53-3-4B; c. *Microcoleus steenstrupii* LSB38; d. *M. steenstrupii* CXA019 and 136-1-1; e. *Microcoleus vaginatus* SRS1-KK2; f. *M. vaginatus* CXA007; g. *M. vaginatus* CXA023 and 98-2-3; h. *M. vaginatus* CXA021; i. *Microcoleus* sp. CXA020; j. *Microcoleus* sp. CXA013

*leofasciculus*和*Kastovskya*聚在A进化支,表明它们具有较近的亲缘关系。细长束脉藻(*Symplocastrum flechtnerii*)是由Pietrasiak等^[24]提出的新物种,其模式藻株来自沙漠生物结皮土壤中,该物种丝状体多是1—3根藻丝,偶尔更多藻丝,藻丝细胞明显长大于宽。细长束脉藻形态特征与斯坦微鞘藻相近^[29]。已有研究表明,细长束脉藻与斯坦微鞘藻具更近的亲缘关系^[24]。Strunecký等^[14]将微鞘藻亚科从席藻科分离出来,提出微鞘藻科(Microcoleaceae)。因此,根据束脉藻的形态特征和谱系关系,本文将束脉藻属归为微鞘藻科。

本研究有2株存疑藻种,分别是CXA020和CXA013。它们在形态上与斯坦微鞘藻(*Microcoleus steenstrupii*)基本相同。尽管CXA020与斯坦微鞘藻参考藻株在同一系统进化支,但与参考序列的同源相似性系数仅在96.8%—97.6%,尚不能确定CXA020与参考藻株是否为同一物种。藻株CXA013与*Pycnacronema*、斯坦微鞘藻、细长束脉藻(*Symplocastrum flechtnerii*)均表现出较近的亲缘关系,与斯坦微鞘藻的序列同源相似性系数仅在96.7%—97.5%,且ITS二级结构差异性明显,亦不能说明是同一物种。以上结果更说明斯坦微鞘藻是多系的,需要进一步界定其物种关系。

4 结论

本研究中的藻株隶属于具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*)、斯坦微鞘藻(*Microcoleus steenstrupii*)、细长束脉藻(*Symplocastrum flechtnerii*)及两株类似斯坦微鞘藻的存疑物种。其中束脉藻属(*Symplocastrum*)是中国新记录属,隶属于微鞘藻科;斯坦微鞘藻(*Microcoleus steenstrupii*)和细长束脉藻(*Symplocastrum flechtnerii*)是中国新记录种。

参考文献:

- [1] Liu Y D, Hu C X, Zhang W J. Environmental Biology of Desert Cyanobacteria and Sand Fixation of Biological Soil Crusts [M]. Beijing: Science Press, 2013: 1-464. [刘永定, 胡春香, 张文军. 荒漠蓝藻环境生物学与生物土壤结皮固沙 [M]. 北京: 科学出版社, 2013: 1-464.]
- [2] Hu C X, Liu Y D. Vertical distribution of algae in semi-desert soil of Shapotou area, Ningxia Hui Autonomous Region [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(1): 38-44. [胡春香, 刘永定. 宁夏回族自治区沙坡头地区半荒漠土壤中藻类的垂直分布 [J]. *生态学报*, 2003, 23(1): 38-44.]
- [3] Qian L, Ye X W, Xiao J S, et al. Nitrogen concentration acting as an environmental signal regulates cyanobacterial EPS excretion [J]. *Chemosphere*, 2021(291): 132878.
- [4] Zhang Y M. The microstructure and formation of biological soil crusts in their early developmental stage [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(2): 117-121.
- [5] Zhang B C, Zhang Y M, Zhao J C, et al. Microalgal species variation at different successional stages in biological soil crusts of the Gurbantunggut Desert, Northwestern China [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2009, 45(5): 539-547.
- [6] Hu C X, Liu Y D, Song L R. Species composition and distribution of algae in Shapotou area, Ningxia Hui Autonomous Region, China [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, 23(5): 443-448. [胡春香, 刘永定, 宋立荣. 宁夏沙坡头地区藻类及其分布 [J]. *水生生物学报*, 1999, 23(5): 443-448.]
- [7] Zhang B C, Zhang Y M, Zhao J C, et al. Variation in algal composition among different developmental stages of biological soil crusts in Gurbantunggut Desert [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 9-17. [张丙昌, 张元明, 赵建成, 等. 古尔班通古特沙漠生物结皮不同发育阶段中藻类的变化 [J]. *生态学报*, 2009, 29(1): 9-17.]
- [8] Dvořák P, Hašler P, Pouličková A. Phylogeography of the *Microcoleus vaginatus* (cyanobacteria) from three continents—A spatial and temporal characterization [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e40153.
- [9] Boyer S L, Johansen J R, Flechtner V R, et al. Phylogeny and genetic variance in terrestrial *Microcoleus* (Cyanophyceae) species based on sequence analysis of the 16S rRNA gene and associated 16S-23S ITS region [J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38(6): 1222-1235.
- [10] Hu H J, Li Y Y, Wei Y X, et al. Freshwater Algae in China [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1980: 57-69. [胡鸿钧, 李尧英, 魏印心, 等. 中国淡水藻类 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1980: 57-69.]
- [11] Komárek J, Anagnostidis K. Cyanoprokaryota 2 Teil: Oscillatoriales [C]//Büdel B, Gärtner G, Krienitz L, et al. (Eds.), Süßwasserflora von Mitteleuropa, vol. 19/2. München: Elsevier, 2005: 1-759.
- [12] Anagnostidis K, Komárek J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales [J]. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement*, 1988(50): 327-472.
- [13] Hu H J, Wei Y X. The Freshwater Algae of China—Systematics, Taxonomy and Ecology [M]. Beijing: Science Press, 2006: 104-146. [胡鸿钧, 魏印心. 中国淡水藻类—系统、分类及生态 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 104-146.]
- [14] Strunecký O, Komárek J, Johansen J R, et al. Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) [J]. *Journal of Phycology*, 2013, 49(6): 1167-1180.
- [15] Strunecký O, Komárek J, Šmarda J. *Kamptomena* (Microcoleaceae, Cyanobacteria), a new genus derived from the polyphyletic *Phormidium* on the basis of combined molecular and cytological markers [J]. *Preslia*, 2014, 86(2): 193-208.
- [16] Geng R Z, Li W K, Chao A M, et al. Establishment of a new filamentous cyanobacterial genus, *Microcoleusiosis* gen. nov. (Microcoleaceae, Cyanobacteria), from

- Benthic Mats in Open Channel, Jiangxi Province, China [J]. *Diversity*, 2021, **13**(11): 548.
- [17] 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 [J]. *Journal of Phycology*, 2008, **44**(6): 1572-1585.
- [18] Zhu H R. Flora Algarum Sinicarum Aquae Dulcis Tomus IX, Cyanophyta Hormogonophyceae [M]. Beijing: Science Press, 2007: 72-145. [朱浩然. 中国淡水藻志 第九卷, 蓝藻门 藻殖段纲 [M]. 北京: 科学出版社, 2007: 72-145.]
- [19] Casamatta D A, Johansen J R, Vis M L, *et al.* Molecular and morphological characterization of ten polar and near-polar strains within the Oscillatoriales (cyanobacteria) [J]. *Journal of Phycology*, 2005, **41**(2): 421-438.
- [20] Johansen J R, Kovacik L, Casamatta D A, *et al.* Utility of 16S-23S ITS sequence and secondary structure for recognition of intrageneric and intergeneric limits within cyanobacterial taxa: *Leptolyngbya corticola* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria) [J]. *Nova Hedwigia*, 2011, **92**(3/4): 283-302.
- [21] Hall T. BioEdit: An Important Software for Molecular Biology [J]. *GERF Bulletin of Bioscience*, 2011, **2**(1): 60-61.
- [22] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, **24**(8): 1596-1599.
- [23] Mathews Lab. RNAstructure Version 5.6. Available online: <http://rna.urmc.rochester.edu/RNAstructure.html> (accessed on 13 May 2021).
- [24] Pietrasiak N, Mühlsteinová R, Siegesmund M A, *et al.* Phylogenetic placement of *Symplocastrum* (Phormidiaceae, Cyanophyceae) with a new combination *S. californicum* and two new species: *S. flechtnerae* and *S. torsivum* [J]. *Phycologia*, 2014, **53**(6): 529-541.
- [25] Petersen J B. The fresh-water cyanophyceae of Iceland [J]. *The Botany of Iceland*, 1923(2): 1-324.
- [26] Gomont M. Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées) [J]. *Annales des Science Naturelles, Botanique, Série 7*, 1892(16): 91-264.
- [27] Fernandes V M C, 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**(5): 1563-1579.
- [28] Sorokovikova E, Belykh O, Krasnopeev A, *et al.* First data on cyanobacterial biodiversity in benthic biofilms during mass mortality of endemic sponges in Lake Baikal [J]. *Journal of Great Lakes Research*, 2020, **46**(1): 75-84.
- [29] Garcia-Pichel F, Loza V, Marusenko Y, *et al.* Temperature drives the continental-scale distribution of key microbes in topsoil communities [J]. *Science*, 2013, **340**(6140): 1574-1577.

TAXONOMY OF MICROCOLEACEAE IN BIOLOGICAL SOIL CRUSTS IN THE GURBANTUNGUT DESERT

LIU Yan-Jin^{1,2}, LI Kai-Kai^{1,2}, ZHANG Ya-Li^{1,2}, ZHAO Kang³ and ZHANG Bing-Chang^{1,2}

(1. School of Geographical Sciences, Shanxi Normal University, Taiyuan 030031, China; 2. Research Center of Ecological Environment in the Middle Reaches of the Yellow River, Shanxi Normal University, Taiyuan 030031, China; 3. College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Taiyuan 030031, China)

Abstract: Biological soil crusts (BSCs) play critical ecological functions in desert ecosystem. *Microcoleus* sp. are key filamentous cyanobacteria and play vital roles in BSCs. More and more strains of Microcoleaceae were found in desert areas, however, it is difficult to distinguish them in species level due to similar morphological characteristic. In this manuscript, 11 filamentous cyanobacterial strains with similar morphology to *Microcoleus* were isolated and purified from BSCs in Gurbantonggute Desert. The experimental cyanobacterial strains were examined morphologically as well as phylogenetically using 16S rRNA gene and the 16S—23S internal transcribed spacer (ITS) region. The results show that the experimental cyanobacterial strains belong to the genera *Microcoleus* and *Symplocastrum*, including two newly recorded species in China: *M. steenstrupii* and *S. flechtnerii*, as well as *M. vaginatus* and a suspect species similar to *M. steenstrupii*. The number and alignment of cyanobacterial filaments, cell size and the shape of apical cells, and phylogenetic relationship based on 16S rRNA are key evidence to identity different species of Microcoleaceae. Secondary structure of ITS are also vital reference to distinguish to different species in same genus.

Key words: Biological soil crusts; *Microcoleus*; Morphological character; 16S rRNA; ITS