

doi: 10.7541/2024.2023.0359

中国单星藻属系统分类学研究

王清华¹ 侯英¹ 刘美¹ 刘旭东² 刘国祥³

(1. 太原师范学院生物科学与技术学院, 晋中 030619; 2. 山西大学生命科学学院, 太原 030006; 3. 中国科学院水生生物研究所, 中国科学院藻类生物学重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 为调查我国单星藻属(*Coelastrella*)物种多样性和分布, 研究从我国各地区采集29株单星藻藻株, 结合形态学及18S rDNA、ITS和*tufA*三个分子标记对该属进行了系统分类学研究, 系统梳理中国记录的单星藻属植物共10种2变种, 并新发现3个中国新记录种, 分别为密纹单星藻*Coelastrella multistriata*、陆生单星藻*Coelastrella terrestris*和气生单星藻*Coelastrella aeroterrestrica*。上述物种的发现弥补了中国核心单星藻分支标本缺乏的问题, 丰富了中国单星藻属的物种多样性, 为该类群进一步的分类修订及资源开发奠定基础。

关键词: 形态学; 系统发育; 中国新记录; 单星藻属

中图分类号: S949.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2024)06-1019-10



单星藻属由Chodat建立于1922年, 其模式种为肋纹单星藻*Coelastrella striolata*。该属最初被描述为由单细胞或多个细胞形成聚合群体, 且在细胞壁上有典型的长条纵向肋纹^[1]。单星藻属的分类历史较为复杂, 已根据形态学和分子数据进行了多次修订。1983年, Komárek 和 Fott^[2]在其著作《Chlorococcales》一书中将单星藻属归入小球藻科Chlorellaceae, 而Hanagata^[3]在1998年首次依据分子数据将单星藻属转移到了栅藻科。此后, 2010年, Hegewald等^[4]通过ITS2二级结构系统发育研究将单星藻属转移到了空星藻亚科。目前, 单星藻属位于绿藻纲Chlorophyceae环藻目Sphaeropleales栅藻科Scenedesmaceae空星藻亚科Coelastroideae, 全球共报道16种4变种, 其中包含一些从拟螺翼藻属*Scotiellopsis*转移过来的新组合。

拟螺翼藻属在1975年由Vinatzer建立, 模式种为红色拟螺翼藻*Scotiellopsis rubescens*。该属最初

的描述特征是纺锤形或柠檬状细胞, 细胞存在顶端增厚现象, 细胞壁上肋纹数一般较少, 约4—20条^[5]。早在1981年时, Punčochářová和Kalina^[6]便对拟螺翼藻属进行了修订, 并提出该属和单星藻属的关系较为密切。他们认为两属的主要区别在于细胞是否有顶端增厚, 以及细胞纵向肋纹的数量, 并建议根据似亲孢子数量将拟螺翼藻属中的多个种转移到单星藻属。2013年, 基于18S rDNA序列进行的系统发育研究及ITS2二级结构分析, Kaufnerová和Eliáš^[7]证明了拟螺翼藻属的模式种红色拟螺翼藻*Scotiellopsis rubescens*与单星藻属成员在属的水平上无法区分, 因此撤销拟螺翼藻属名, 并将其成员归入单星藻属中。

单星藻属内大多数物种生存于气生或亚气生生境, 如土壤、岩石表面、墙壁或树皮表面, 有时也可见于淡水水体^[8, 9]。它们在全球广泛分布, 从寒冷的北极到热带地区均有记载。该属许多种类

收稿日期: 2023-11-20; **修订日期:** 2024-01-03

基金项目: 国家自然科学基金(32000167和32370219); 山西省基础研究计划资助项目(202303021221082); 汾河流域地表过程与资源生态安全山西省重点实验室(太原师范学院); 山西省“1331工程”重点创新团队建设基金和水污染生态修复重点实验室项目资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (32000167 and 32370219); Fundamental Research Program of Shanxi Province (202303021221082); Shanxi Key Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecological Security in Fenhe River Basin, Taiyuan Normal University; the Fund for Shanxi ‘1331 Project’ Key Innovative Research Team and Key Laboratory of Ecological Restoration of Water Pollution (Taiyuan)]

作者简介: 王清华(1992—), 女, 博士, 副教授; 研究方向为藻类分类与资源利用。E-mail: wqinghua123@126.com

通信作者: 刘旭东, 男, 博士, 副教授; 主要从事淡水藻类分类与系统发育、淡水藻类生态学及微藻生物技术相关领域研究。E-mail: liuxudong@sxu.edu.cn

有较强的耐热性,例如发现于温泉中的耐热单星藻球形变种 *Coelastrella thermophila* var. *globulina* 具有耐高温的特性^[10]。该属许多种类在自然生长的后期,亦或在高光、高盐、营养缺乏等胁迫条件下,能产生大量的油脂,如藻株 *Coelastrella* sp. D3-1 在营养条件缺乏下,产生的油脂占细胞干重的20%—44%,故而单星藻被认为是一种很有前途的生物柴油生产原料^[11,12]。此外,单星藻属中许多种类还富含类胡萝卜素,其主要成分为虾青素、角黄素、叶黄素和金盏花质等^[13],例如一株分离自台湾的单星藻藻株 *Coelastrella* sp. F50 积累的类胡萝卜素含量可达细胞干重的4%以上^[14–16],具有较高的开发潜质。

本研究于全国各地新采集单星藻藻株29株,经形态学及系统发育学分析共鉴定得到9种2变种。结合前期研究结果^[10],本研究共总结中国记录单星藻属植物10种2变种。其中,密纹单星藻 *C. multistriata* (GY10-5、HS8-5和SZ2-3)、陆生单星藻 *C. terrestris* (GY1-1)和气生单星藻 *C. aeroterrestrica* (ZJJ41-2)

为中国新记录种。本研究弥补了我国在核心单星藻分支标本采集及数据库中序列缺乏的不足。

1 材料与方法

1.1 标本的采集与培养

本研究中所用到的29个藻株标本采集于全国各地,标本采集信息及生境见表1。将采集到的标本涂布于固体BG11培养基上,通过逐步画线纯化藻株。纯化后藻株培养在BG11液体培养基中,恒温培养箱条件设置为温度25℃,光照强度30 μmol/(m²·s)。

1.2 藻株的形态特征观察

光学形态观察:使用Nikon eclipse Ni (Nikon, 日本)光学显微镜,采用明场(Bright field, BF)、微分干涉(Differential interference contrast, DIC)模式观察藻细胞形态并记录照片。

超微结构观察:收集纯化后培养的对数生长期藻细胞,无菌水洗涤3次,用2.5%戊二醛固定放4℃

表 1 标本信息表

Tab. 1 Specimen information

藻种名称 Species	采样地点 Location	经纬度 Coordinate	海拔 Altitude (m)	采样生境 Habitat	藻种名称 Species	采样地点 Location	经纬度 Coordinate	海拔 Altitude (m)	采样生境 Habitat
<i>Coelastrella rubescens</i>					<i>Coelastrella tenuithecra</i>				
HY1-1	河南淮阳	33°44'2.2" N, 114°53'8.7" E	52.0	湿润岩石	Li3-1	山西临汾	36°5'27.4"N, 111°30'5.5"E	668.9	泥土
WL3-1	山西忻州	38°45'00" N, 111°55'48" E	2664.2	土壤	CZ3-2	山西长治	36°14'43.3" N 113°3'12.9" E	780.0	苔藓
WL3-2	山西忻州	38°45'00" N, 111°55'48" E	2664.2	土壤	CS16-4	山西藏山	38°13'10" N, 113°21'27" E	995.9	石块
<i>Coelastrella rubescens</i> var. <i>oocystiformis</i>					XH3-1	山西潇河	37°36'02" N, 112°33'49" E	1680.0	流水石头
DS7-1	山西太原	37°52'14.1" N, 112°32'55.9" E	762.8	树皮	<i>Coelastrella multistriata</i>				
HS8-1	安徽黄山	29°42'33" N, 118°19'02" E	1865.0	墙壁表面	HS8-5	安徽黄山	29°42'33" N, 118°19'02" E	1864.8	墙壁表面
HS8-2	安徽黄山	29°42'33" N, 118°19'02" E	1865.0	墙壁表面	GY10-5	贵州贵阳	26°25'38" N, 106°40'06" E	1146.0	女贞树树皮
<i>Coelastrella thermophila</i> var. <i>globulina</i>					SZ2-3	江苏苏州	31°24'18" N, 120°38'37" E	4.0	石块表面
JYHII4-1	山西晋阳湖	37°46'47"N 112°30'36"E	762.9	土壤	<i>Coelastrella terrestris</i>				
JYHII7-1	山西晋阳湖	37°45'34"N 112°30'41"E	750.0	水泥表面	GY1-1	贵州贵阳	26°26'07" N, 106°39'57" E	1078.0	墙壁表面
<i>Coelastrella thermophila</i>					<i>Coelastrella aeroterrestrica</i>				
PQG1-1	山西庞泉沟	37°50'4.9" N, 111°28'18.9" E	1831.0	沙棘树皮	ZJJ41-2	湖南张家界	29°01'21" N, 110°22'59" E	890.2	湿润土壤
PQG4	山西庞泉沟	37°50'4.9" N, 111°28'18.9" E	1831.0	沙棘树皮	<i>Coelastrella oocystiformis</i>				
PQG21-1	山西庞泉沟	37°50'4.9" N, 111°28'18.9" E	1680.0	树皮	TY1-1	湖南桃源	28°53'5.2" N, 111°29'34.7" E	1001.0	岩石表面
ZJZ3-2	山西阳泉	38°3'53" N, 113°19'57" E	969.2	墙壁	TY1-5	湖南桃源	28°53'5.2" N, 111°29'34.7" E	1000.0	岩石表面
CS18-1	山西阳泉	38°13'14"N 113°21'33"E	1055.8	土壤	<i>Coelastrella chongqingensis</i>				
JYHIII1-1	山西晋阳湖	37°45'34" N, 112°30'41" E	762.9	潮湿土壤	GY1-3	贵州贵阳	26°26'07" N, 106°39'57" E	1078.0	墙壁表面
LLII4-1	山西吕梁	37°7'34.9" N, 111°46'54.2" E	743.0	泥土	GY3-3	贵州贵阳	26°26'11" N, 106°40'03" E	1050.2	墙壁表面
LLII3-1	山西吕梁	37°7'53.4" N, 111°45'7.1" E	745.0	流水石块表面					

冰箱过夜;用无菌水洗涤两次后,使用系列梯度乙醇脱水:0.3、0.5、0.7、0.8、0.9、0.95和0.98,每个梯度20min,转移到无水乙醇中脱水2次,每次20min;使用叔丁醇置换4次,每次10min,转移至纯叔丁醇中置换,4℃冰箱12h;放置于冷冻干燥机中干燥24h,后经细胞喷金,用Hitachi S-4800扫描电镜(Hitachi High-Technologies, 日本)观察^[17]。

1.3 基因组DNA提取及单分子标记扩增

DNA的提取使用Ezup柱式植物基因组DNA提取试剂盒(Sangon Biotech, Shanghai, China)。PCR扩增体系为50 μL,分别为上下游引物各1 μL,模板4 μL, 2 × Tap Master Mix (ExTaq; TaKaRa) 25 μL, ddH₂O 19 μL。叶绿体基因*tufA*扩增使用引物对为*tufA*F (5'-TGAAACAGAAMAWCGTCATTATGC-3')和*tufA*R (5'-CCTTCNCGAATMGCRAAWCGC-3')^[18]。18S rDNA序列扩增引物对为18F (5'-AACC TGGTTGATCCTGCCAGT-3')和18R (5'-TGATCC TTCTGCAGGTTACCTAC-3')^[19]。ITS序列扩增引物对为NS7m (5'-GGCAATAACAGGTCTGT-3')和LR1850 (5'-CCTCACGGTACTTGTTC-3')^[20]。PCR扩增产物使用凝胶电泳检测后送测序公司测序(生工, 北京)。测序结果使用ContigExpress Project拼接^[21], 手动校正后提交到GenBank数据库。

1.4 系统发育学分析

分别对核编码基因18S rDNA、ITS序列和叶绿体基因*tufA*基因序列进行系统发育分析。相关物种的序列从GenBank获得, 序列的比对使用Mafft 7.0^[22], 并使用MEGA 6进行手动调整剪切^[23]。贝叶斯分析(BI)使用MrBayes版本3.2.1^[24]。贝叶斯分析运行1000000代, 每1000代取样1次, 分析达到平稳(标准误差<0.01)则运行结束。ML法使用RAxML (version 8.0.24)软件^[25], 使用模型为GTRGAMMAI。

2 结果

2.1 形态学观察

密纹单星藻 *Coelastrella multistriata*

同种异名: *Scotiella multistriata* Trenkwalder 1975

Coelastrella striolata var. *multistriata* (Trenkwalder) Kalina & Puncochárová 1987

营养细胞为单生, 细胞呈椭球形到球形。细胞直径5—9 μm, 色素体周生(图 1A)。蛋白核1个, 通过形成4或8个似亲孢子进行无性繁殖(图 1C和2E)。老化细胞逐渐积累类胡萝卜素呈现橙红色, 扫描电镜照片显示幼期细胞呈现椭球形, 长5—6 μm, 宽4—5 μm, 细胞表面具有明显的纵向肋纹, 肋纹数量14—22条(图 2A和2B)。成熟细胞呈近球形, 直

径5—7 μm, 细胞表面肋纹数量24条(图 2C)。老化细胞呈球形, 细胞壁表面近光滑, 细胞直径7—9 μm(图 2—4), 形成8个似亲孢子进行无性繁殖(图 2E和2F)。

生境: 湿润墙面, 潮湿树皮, 湿润石块表面。

分布: 安徽黄山、贵州贵阳、江苏苏州。

参考藻株: HS8-5、GY10-5、SZ2-3。

陆生单星藻 *Coelastrella terrestris*

异名: *Scotiella terrestris* Reising 1964

营养细胞多为单细胞, 细胞呈现纺锤形、不规则纺锤形或柠檬形, 细胞宽10—15 μm, 长12—18 μm, 色素体片状周生(图 1E和2F), 具有一个明显的蛋白核, 通过形成2—4—8个似亲孢子进行无性繁殖(图 1H、2J、2K和2L), 似亲孢子直径为17—23 μm; 扫描电镜显示幼期细胞大小约为长10 μm, 宽8 μm, 细胞表面皱缩, 肋纹明显(细胞壁上的肋纹在光镜下不可见), 肋纹数10条; 成熟细胞椭球形或亚球形, 两端增厚, 长约10—13 μm, 宽约8—12 μm, 细胞表面肋纹明显, 肋纹数10—12条(图 2G、2H和2I)。

生境: 湿润墙面。

分布: 贵州贵阳。

参考藻株: GY1-1

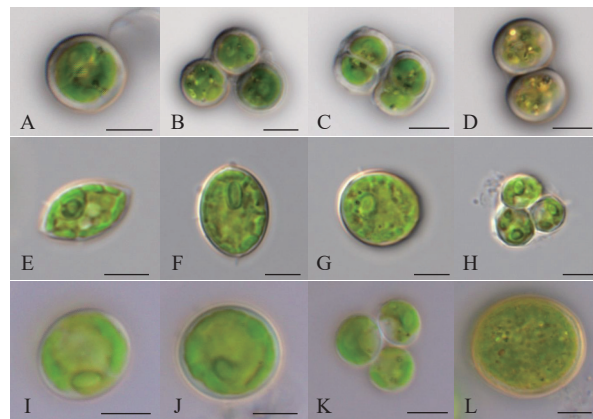


图 1 密纹单星藻(HS8-5)、陆生单星藻(GY1-1)和气生单星藻(ZJJ41-2)普通光学显微照片

Fig. 1 Light micrographs of *C. multistriata* (HS8-5), *C. terrestris* (GY1-1) and *C. aeroterrestrica* (ZJJ41-2) (Scale bar=5 μm)

A—D. 密纹单星藻普通光学显微照片: A—B. 成熟细胞; C. 似亲孢子; D. 老化细胞开始积累类胡萝卜素; E—H. 陆生单星藻普通光学显微照片: E. 幼期细胞; F. 成熟细胞; G. 老化细胞; H. 似亲孢子; I—L. 气生单星藻普通光学显微照片: I. 幼期细胞; J. 成熟细胞; K. 似亲孢子; L. 老化细胞

A—D. Light micrographs of *C. multistriata*: A—B. mature cells; C. autospore; D. aging cells began to accumulate carotenoids; E—H. Light micrographs of *C. terrestris*: E. young cells; F. mature cells; G. aging cells; H. autospore; I—L. Light micrographs of *C. aeroterrestrica*: I. young cells; J. mature cells; K. autospore; L. aging cells

气生单星藻 *Coelastrella aeroterrestrica*

营养细胞多为单细胞, 细胞球形, 直径9—13 μm (图 1J), 幼期细胞少见呈椭圆形细胞[(5—7) μm × (6—9) μm ; 图 1I], 叶绿体单个, 杯状顶生, 至细胞老化后逐渐呈碎片化, 并转为橙红色。老化细胞膨胀呈圆球形, 细胞直径15—19 μm (图 1L), 具有一个明显的蛋白核。通过形成2—4—8—16个似亲孢子进行无性繁殖(图 1K), 似亲孢子直径为11—14 μm 。

生境: 湿润土壤。

分布: 湖南张家界。

参考藻株: ZJJ41-2

2.2 系统发育学分析

基于ITS序列系统发育分析结果显示(图 3), GY1-1与陆生单星藻聚为一支, 并得到了较高的支持值(100/1), 并且形态相似; HS8-5、GY10-5和SZ2-3与密纹单星藻聚为一支, 同样也具有较高的支持值

(100/1), 同时这3个藻株的ITS序列与藻株编号为CCALA 309的密纹单星藻只相差1个碱基; ZJJ41-2与气生单星藻聚为一支, 且得到了较高的支持值(100/1), 该藻株与藻株编号为SWK1-2的气生单星藻藻株的ITS序列只相差两个碱基, 且形态相似, 因ITS序列保守性低, 突变频率高, 可用于种或亚种水平的鉴定。因此将GY1-1的藻株鉴定为陆生单星藻, 将HS8-5、GY10-5和SZ2-3的藻株鉴定为密纹单星藻, ZJJ41-2藻株鉴定为气生单星藻, 这3种藻类为我国首次报道。基于18S rDNA基因和*tufA*基因构建的系统发育树(图 4)与ITS构建的系统发育树结构相似。

3 讨论

早在1998年, Hanagata^[3]就基于18S rDNA对单星藻属进行了系统发育研究。此后, 世界上不同地区和生境中的单星藻基因序列被不断的提交到NCBI数据库中, 这使得该属的分类学研究得到了快速发展。现今, 根据Algaebase记录, 单星藻属共报道过16种4变种, 但其中一些物种的命名已经无效。例如, 在2000和2002年, Hegewald和 Hanagata通过18S rDNA序列对栅藻科进行系统发育分析时, 已将肋纹单星藻密纹变种*C. striolata* var. *multistriata* 修订为密纹单星藻*C. multistriata*^[26]; 现Algaebase中记录的*C. corcontica*和*C. multistriata* var. *corcontica*为同物异名^[27]; 2019年, 分别由日本学者发表的新种虾青素单星藻*C. astaxanthina*^[28]和采自中国的新变种耐热单星藻球形变种*C. thermophila* var. *globulina*的18S rDNA和ITS基因完全相同, 本研究根据发表时间建议将两者合并为耐热单星藻球形变种; 另在中国发表的单星藻属一个新种和一个新变种还未被记录到AlgaeBase数据库中, 即红色单星藻卵形变种*C. rubescens* var. *oocystiformis*和重庆单星藻*C. chongqingensis*^[10, 29]。因此, 现单星藻属世界范围内应已报道18种2变种, 而我国记录的单星藻属植物有10种2变种^[29—31]如下:

我国单星藻属分种检索表

1. 细胞表面近光滑或仅具细微网纹……………2
1. 细胞表面具纵向肋纹……………3
2. 细胞圆球形……………1. 薄壁单星藻*C. tenuithec*
2. 细胞呈椭圆形或卵形, 末端钝圆……………2. 重庆单星藻*C. chongqingensis*
3. 细胞球形……………

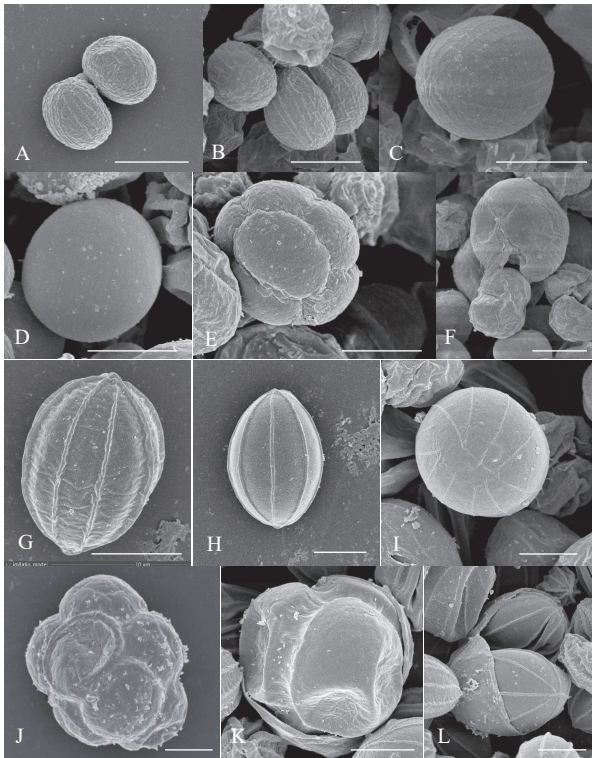


图2 密纹单星藻(HS8-5)和陆生单星藻(GY1-1)扫描电镜照片
Fig. 2 The SEM images of *C. multistriata* (HS8-5) and *C. terrestris* (GY1-1) (Scale bar=5 μm)

A—F. 密纹单星藻的扫描电镜照片: A、B. 细胞幼期; C. 成熟细胞; D. 老化细胞; E、F. 似亲孢子; G—L. 陆生单星藻的扫描电镜照片: G. 幼期细胞; H. 成熟细胞; I. 老化细胞; J. 八细胞似亲孢子; K. 四细胞似亲孢子; L. 刚释放的似亲孢子

A—F. SEM images of *C. multistriata*: A, B. young cell; C. mature cells; D. aging cell; E, F. Autosporangium; G—L. SEM images of *C. terrestris*: G. young cells; H. mature cells; I. aging cells; J. auto-sporangium with eight cells; K. autosporangium with four cells; L. Autosporangium just released

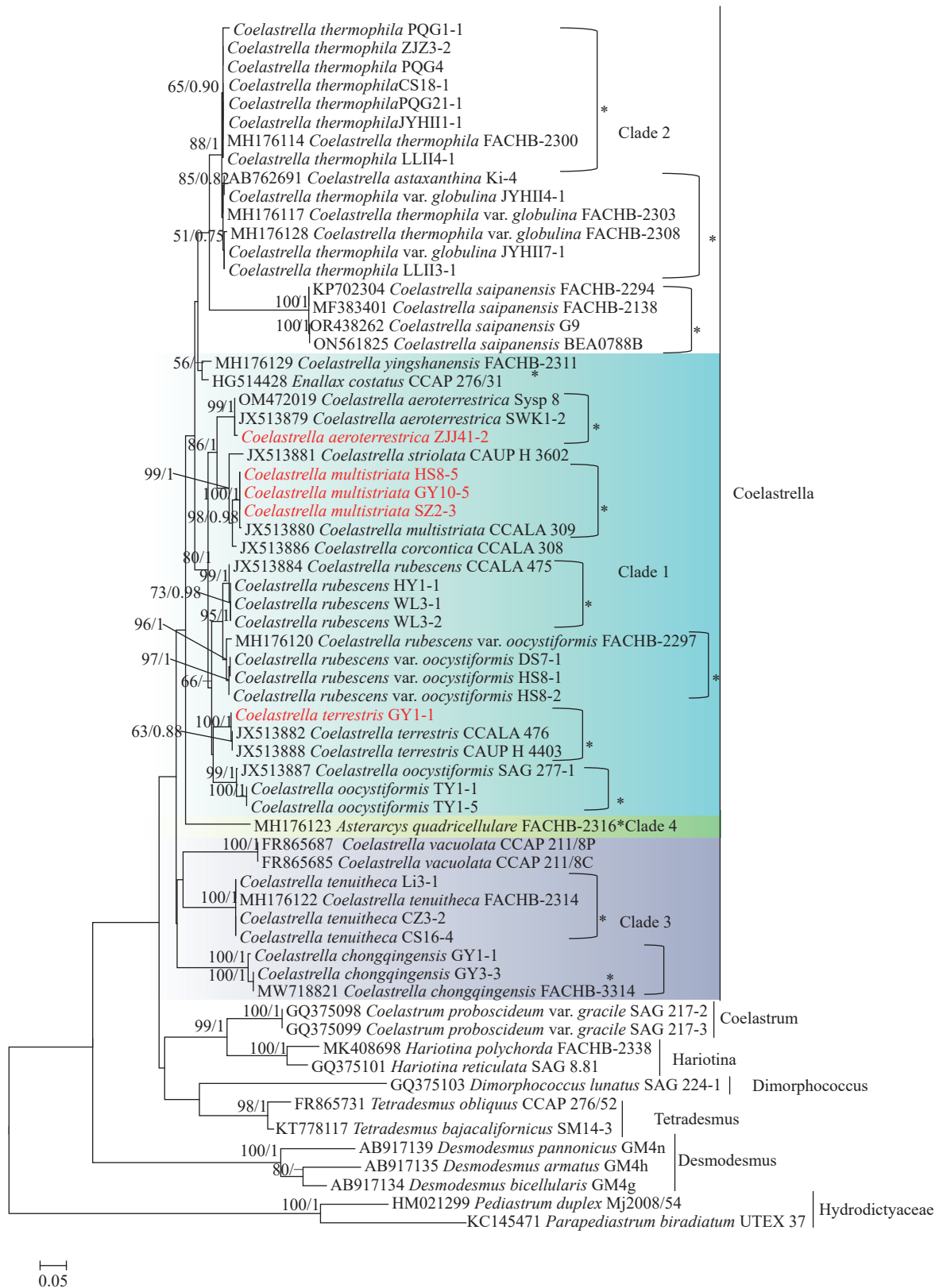
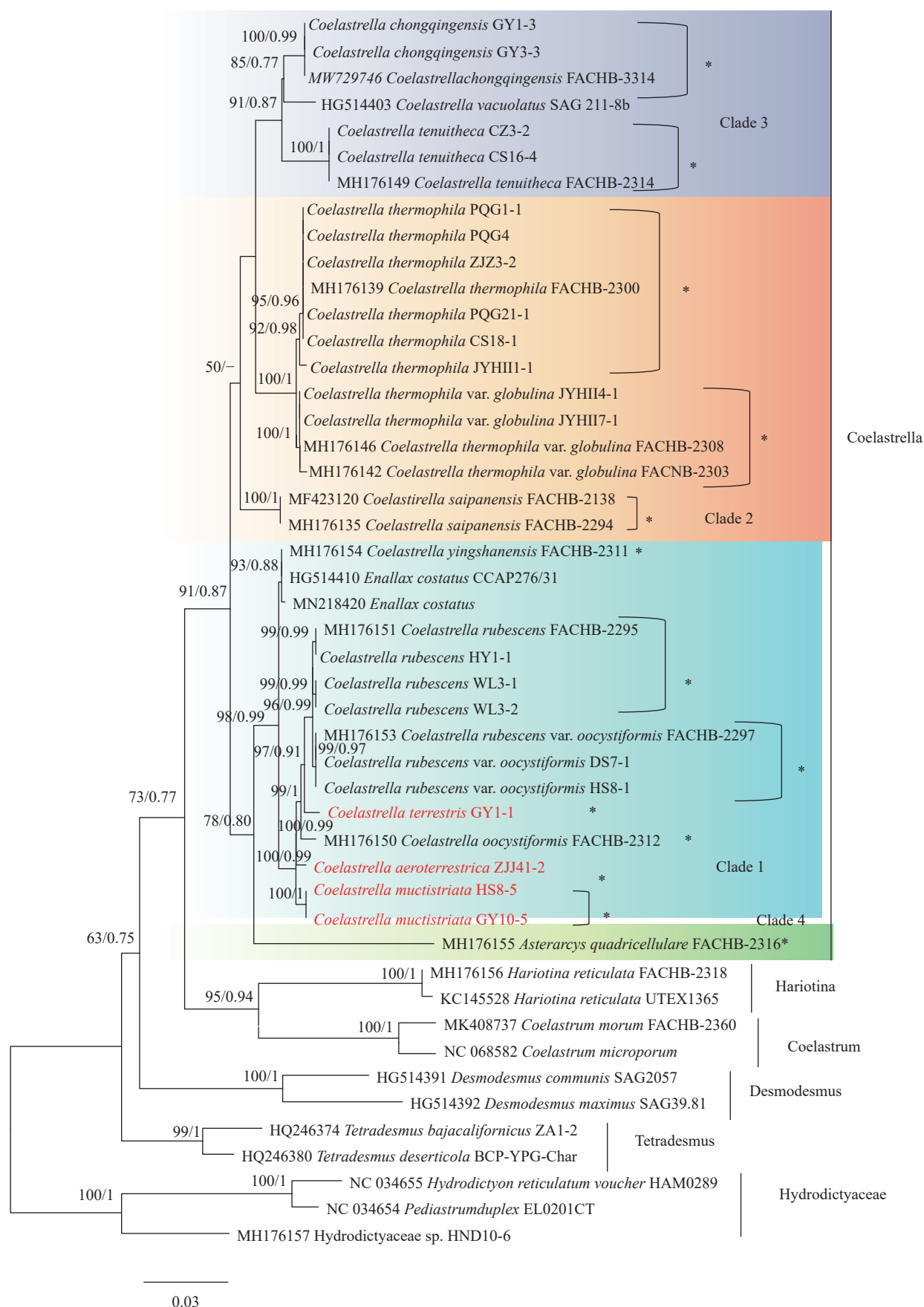


图3 基于ITS序列构建的栅藻科系统树

Fig. 3 Scenedesmaceae phylogenetic tree based on ITS sequences

节点处数值显示最大似然高于50%和贝叶斯高于0.70的后验概率; *表示现中国已发现并记录的种, 下同

Value at the node shows that the maximum likelihood is higher than 50% and the Bayesian is higher than 0.70 posterior probability; * indicate species that have been discovered and recorded in China; the red font represents the new records discovered in this study. The same applies below

图 4 基于 *tufA* 序列构建的栅藻科系统树Fig. 4 Scenedesmaceae phylogenetic tree based on *tufA* sequences

-3. 塞班单星藻 *C. saipanensis*
3. 细胞不呈球形.....4
4. 细胞呈宽椭圆形到球形.....5
4. 细胞呈纺锤形, 柠檬形, 卵形.....6
5. 肋纹光镜下可见, 肋纹数为16—40条.....4
-4. 密纹单星藻 *C. multistriata*
5. 肋纹光镜下不可见, 肋纹数为6—16条.....5
-5. 气生单星藻 *C. aeroterrestrica*
6. 植物体存在群体, 由4或8细胞组成, 交错排列成2行, 细胞呈不对称的纺锤形或米粒状, 常仅具一端极点增厚.....6
-6. 耐热单星藻 *C. thermophila*
6. 植物体为单细胞.....7
7. 电镜下可见肋纹较细, 略有皱缩, 幼期细胞呈瘦纺锤形.....7
-7. 英山单星藻 *C. yingshanensis*
7. 电镜下可见肋纹边缘清晰光无皱缩滑.....8
8. 幼期细胞不对称呈柠檬形, 具明显极点增厚.....8
-8. 陆生单星藻 *C. terrestris*
8. 幼期细胞纺锤形至球形, 成熟后细胞极点增厚不明显呈球形, 椭圆形或卵形.....9
9. 老化细胞油滴呈黄色, 细胞明显呈宽椭圆形到卵形.....9
-9. 卵形单星藻 *C. oocystiformis*
9. 老化细胞油滴呈橙红色, 细胞宽椭圆形到近球形.....10
-10. 红色单星藻 *C. rubescens*

1. 薄壁单星藻

Coelastrella tenuithec Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxing Liu & Zhengyu Hu 2019

国内分布于湖北: 武汉; 河南: 周口, 洛阳; 山西: 晋阳湖, 长治, 藏山, 潇河。

生境: 土壤表面、沟渠等小水体。

2. 重庆单星藻

Coelastrella chongqingensis Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxing Liu & Zhengyu Hu 2021

国内分布于河南: 周口, 重庆: 缙云山。

生境: 潮湿石头表面。

3. 塞班单星藻

Coelastrella saipanensis Hanagata 2001: 129

国内分布于河南: 洛阳。

国外分布于美国: 塞班岛。

生境: 树皮、石块表面等。

4. 密纹单星藻

Coelastrella multistriata (Trenkwalder) Kalina & Puncochárová 1987

Synonyms: *Scotiella multistriata* Trenkwalder 1975

Coelastrella striolata var. *multistriata* (Trenkwalder) Kalina & Puncochárová 1987

国内分布于安徽: 黄山; 贵州: 贵阳; 江苏: 苏州。

国外分布于奥地利; 蒂罗尔州。

生境: 湿润墙面, 潮湿树皮, 湿润石块表面及土壤。

5. 气生单星藻

Coelastrella aeroterrestrica Tschakner, Gärtner & Kofler 2008

国内分布于湖南: 张家界。

国外分布于: 奥地利和保加利亚

生境: 湿润土壤。

6a. 耐热单星藻

Coelastrella thermophila Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxiang Liu & Zhengyu Hu 2019

国内分布于湖北: 武汉, 宜昌, 洪湖; 广西: 南宁; 重庆; 山西: 庞泉沟, 潇河, 阳泉, 晋阳湖, 吕梁。

生境: 岩石或墙壁表面及混凝土地面、江河湖泊等水生环境也有分布, 该种较能耐受高温环境。

6b. 耐热单星藻球形变种

Coelastrella thermophila var. *globulina* Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxiang Liu & Zhengyu Hu 2019

Synonym: *Coelastrella astaxanthina* K.Ohkoshi, R.Yoshida & S.Kawasaki 2019

国内分布于湖北: 咸宁, 洪湖。

国外分布于日本。

生境: 岩石及墙壁表面、池塘、湖泊、河流及沥青表面。

7. 英山单星藻

Coelastrella yingshanensis Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxiang Liu & Zhengyu Hu 2019

国内分布于湖北: 鄂州。

生境: 温泉水渠。

8. 陆生单星藻

Coelastrella terrestris (Reisigl) Hegewald & N.Hanagata 2002

Synonym: *Scotiella terrestris* Reisigl 1964

国内分布于贵州: 贵阳。

国外分布于: 保加利亚; 伊拉克; 奥地利; 捷克共和国。

生境: 湿润墙面、土壤。

9a. 卵形单星藻

Coelastrella oocystiformis (J.W.G.Lund) E.Hegewald & N.Hanagata 2002

Synonyms: *Scotiella oocystiformis* J.W.G.Lund 1957

Scotiello cystis oocystiformis (J.W.G.Lund) Fott 1976

Scotiellopsis oocystiformis (J.W.G.Lund) Puncochárová & Kalina 1981

Scenedesmus oocystiformis (J.W.G.Lund) N.Hanagata 1998

国内分布于湖南: 张家界。

国外分布于英国; 韩国: 洪川河。

生境: 岩石表面。

9b. 红色单星藻卵形变种

Coelastrella rubescens var. *oocystiformis* Qinghua Wang, Huiyin Song, Xudong Liu, Guoxiang Liu & Zhengyu Hu 2019

国内分布于广西: 南宁; 山西: 太原; 安徽: 黄山。

生境: 干燥树皮、墙壁。

10. 红色单星藻

Coelastrella rubescens (Vinatzer) Kaufnerová & Eliás 2013: 426

Synonym: *Scotiellopsis rubescens* Vinatzer, 1975

国内分布于河南: 周口; 广西: 南宁; 山西: 忻州。

国外分布于奥地利。

生境: 湿润的岩石或墙壁表面、树皮表面、高山土壤等。

单星藻属各种类间的形态差异主要体现在细胞形态、大小及细胞壁表面肋纹数量。作者前期研究已总结了广义单星藻属可分为至少四种形态型^[10]。第一种形态型为细胞球形或宽椭球形, 细胞壁纵向肋纹多达16—40条(图 5A); 第二种形态型为细胞纺锤形或柠檬状, 肋纹数一般较少约4—12(20)条(图 5B); 第三种形态型为细胞球形或近球形, 细胞壁近似光滑或仅具细微网纹(图 5C); 第四种形态型为四细胞群体, 群体外具胶被, 细胞表面光滑(图 5D)。其中, 耐热单星藻划分到了第一种形态型, 但是其细胞呈纺锤形, 且在本研究中发现耐热单星藻存在群体形态, 细胞群体扁平, 由4或8细胞组成, 排列成2排。其群体形态与*Enallax costatus*相似, 且在ITS和*tufA*系统发育树中英山单星藻和*E.*

costatus CCAP276/31都形成了独立分支。*E. costatus*多以群体形态出现, 但其单细胞形态与单星藻属中细胞呈纺锤形的类群(多来自拟螺翼藻属)极为相似。单星藻属物种传统上多被认为是以单细胞存在的, 但作者认为是否形成群体或仅是单细胞并不能作为稳定的形态特征来区分不同的属。目前缺少伊那藻属模式物种标本序列, 无法对该属进一步修订。随着未来更多分子数据的获取, 伊那藻属成员或许也会被转移至单星藻属。此外, 本研究新发现耐热单星藻、耐热单星藻球形变种、英山单星藻、塞班单星藻和*E. costatus*均可生活于水生生境, 而单星藻属其他种基本生活在土壤、石块表面和墙壁表面等气生生境中。这几个藻株在ITS系统发育树上形成了一个独立的分支, 且该分支表面以肋纹为脊, 表面略微皱缩^[10]。

前期基于有限的标本序列初步证明, 基于*tufA*基因的系统发育研究结果更为可靠, 系统树拓扑结构与形态特征更为吻合, 且部分基部分支支持值也更高^[10, 30]。本研究新获得部分核心单星藻分支标本及序列, 研究结果进一步支持*tufA*序列在单星藻属分类学研究中的有效性。*tufA*结果与ITS结果均表明原拟螺翼藻属的物种与核心单星藻成员确实位于同一分支, 二者有着较近的亲缘关系, 但存在

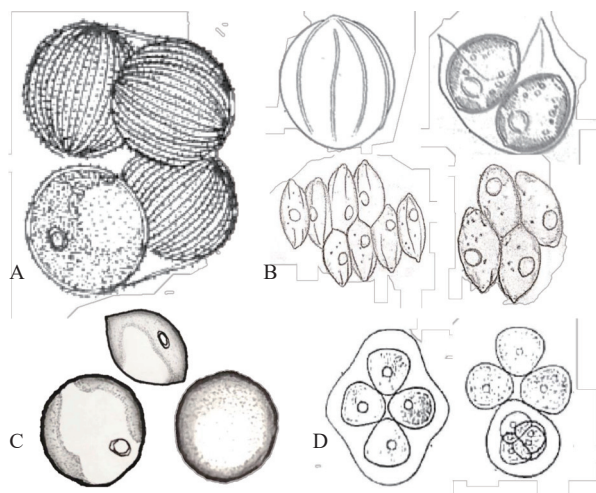


图5 广义单星藻属四种形态型示意图

Fig. 5 Diagram of four morphotype in *Coelastrella* sensu lato. A. 形态型1: 肋纹单星藻; B. 形态型2: 红色单星藻(上)和伊那藻属(下); C. 形态型3: 液泡单星藻 *C. vacuolata*; D. 形态型4: 四胞星网藻 *Asterarcys quadricellularis*. The diagram A, B and D are cited from Komarek & Fott (1983), the diagram C is drawn by the authors

A. Morphotype 1: *C. striolata*; B. Morphotype 2: *C. rubescens* (upper) and *Enallax costatus* (lower); C. Morphotype 3: *C. vacuolata*; D. Morphotype 4: *Asterarcys quadricellularis*. The diagram A, B and D are cited from Komarek & Fott (1983), the diagram C is drawn by the authors

稳定的形态学差异。另外,细胞呈纺锤形的英山单星藻与伊那藻形成的分支,在基于*tufA*序列的系统树中与同样为纺锤形细胞的拟螺翼藻属成员聚为一支,且获得较高的支持值,也与形态学证据更为吻合。

在本研究通过ITS和*tufA*系统发育分析结果,将广义单星藻属划分为4个分支:第一分支(Clade 1)为核心单星藻分支,即(原)单星藻属与(原)拟螺翼藻属分支,该分支包含2种形态型,即细胞为球形、椭球形,细胞表面具有明显肋纹,肋纹数最多达16—40条(图 5A);以及细胞呈纺锤形或柠檬状,细胞具顶点增厚,肋纹数量一般较少,约6—14 (20)条(图 5B),该分支物种生境多为土壤、石壁表面和墙壁表面等气生或亚气生生境;第二分支(Clade 2)是以耐热单星藻、耐热单星藻球形变种和塞班单星藻形成的分支,该分支细胞为不对称的纺锤形或球形,细胞表面具有肋纹,且以肋纹为脊表面略微皱缩(接近形态型1),某些物种存在群体形态,且该分支成员均在水生生境中有发现;第三分支(Clade 3)物种细胞壁近似光滑或仅具细微网纹,无明显的纵向肋纹(图 5C);第四分支(Clade 4)仅包含1个物种四细胞星网藻,为第四种形态型,即四细胞群体,群体外具胶被(图 5D)。

本研究基于目前采集于中国地区的单星藻属植物标本进行系统的分类学研究,对中国记录的单星藻物种进行了梳理,为国内该类群植物本底资源现状调查及资源开发奠定基础。

参考文献:

- [1] Chodat R. Matériaux pour l'histoire des Algues de la Suisse [J]. *Bulletin de la Société Botanique de Geneve*, 1922(13): 66-114.
- [2] Komárek J, Fott B. Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. 7 Teil. Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung Chlorococcales [M]. Stuttgart: E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, 1983: 1-1044.
- [3] Hanagata N. Phylogeny of the subfamily Scotiellophytoideae (Chlorophyceae, Chlorophyta) and related taxa inferred from 18S ribosomal RNA gene sequence data [J]. *Journal of Phycology*, 1998, **34**(6): 1049-1054.
- [4] Hegewald E, Wolf M, Keller A, et al. ITS2 sequence-structure phylogeny in the Scenedesmaceae with special reference to *Coelastrum* (Chlorophyta, Chlorophyceae), including the new genera *Comasiella* and *Pectinodesmus* [J]. *Phycologia*, 2010, **49**(4): 325-335.
- [5] Vinatzer G. Neue Bodenalgae aus den Dolomiten [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1975, **123**(3): 213-235.
- [6] Punčochářová M, Kalina T. Taxonomy of the genus *Scotiellopsis* Vinatzer (Chlorococcales, Chlorophyta) [J]. *Archiv Für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 1981, **27**: 119-147.
- [7] Kaufnerová V, Eliáš M. The demise of the genus *Scotiellopsis* Vinatzer (Chlorophyta) [J]. *Nova Hedwigia*, 2013, **97**(3/4): 415-428.
- [8] Abe K, Takizawa H, Kimura S, et al. Characteristics of chlorophyll formation of the aerial microalga *Coelastrum striolata* var. *multistriata* and its application for environmental biomonitoring [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2004, **98**(1): 34-39.
- [9] Uzunov B A, Stoyneva M, Gärtner G, et al. First record of *Coelastrum* species (Chlorophyta: Scenedesmaceae) in Bulgaria [J]. *Berichte des Naturwissenschaftlichen-Medizinischen Verein Innsbruck*, 2008(95): 27-34.
- [10] Wang Q, Song H, Liu X, et al. Morphology and molecular phylogeny of coccoid green algae *Coelastrum* sensu lato (Scenedesmaceae, Sphaeropeales), including the description of three new species and two new varieties [J]. *Journal of Phycology*, 2019, **55**(6): 1290-1305.
- [11] Ali H E A, Vorisek F, Dowd S E, et al. Formation of Lutein, β -Carotene and Astaxanthin in a *Coelastrum* sp. Isolate [J]. *Molecules*, 2022, **27**(20): 6950.
- [12] Boutarfa S, Senoussi M M, Gonzalez-Silvera D, et al. The Green Microalga *Coelastrum thermophila* var. *globulina* (Scenedesmaceae, Chlorophyta) isolated from an Algerian hot spring as a potential source of fatty acids [J]. *Life*, 2022, **12**(4): 560.
- [13] Abe K, Hattori H, Hirano M. Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the aerial microalga *Coelastrum striolata* var. *multistriata* [J]. *Food Chemistry*, 2007, **100**(2): 656-661.
- [14] Hu C W, Chuang L T, Yu P C, et al. Pigment production by a new thermotolerant microalga *Coelastrum* sp. F50 [J]. *Food Chemistry*, 2013, **138**(4): 2071-2078.
- [15] Aburai N, Ohkubo S, Miyashita H, et al. Composition of carotenoids and identification of aerial microalgae isolated from the surface of rocks in mountainous districts of Japan [J]. *Algal Research*, 2013, **2**(3): 237-243.
- [16] Corato A, Le T T, Baurain D, et al. A fast-growing oleaginous strain of *Coelastrum* capable of astaxanthin and canthaxanthin accumulation in phototrophy and heterotrophy [J]. *Life*, 2022, **12**(3): 334.
- [17] Wang Q, Song H, Liu X, et al. Deep genomic analysis of *Coelastrum saipanensis* (Scenedesmaceae, Chlorophyta): comparative chloroplast genomics of Scenedesmaceae [J]. *European Journal of Phycology*, 2019, **54**(1): 52-65.
- [18] Famà P, Wysor B, Kooistra W H C F, et al. Molecular phylogeny of the genus *Caulerpa* (Caulerpaceae, Chlorophyta) inferred from chloroplast *tufA* gene [J]. *Journal of Phycology*, 2002, **38**(5): 1040-1050.
- [19] Medlin L, Elwood H J, Stickel S, et al. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions [J]. *Gene*, 1988, **71**(2): 491-499.
- [20] Bhattacharya D, Friedl T, Damberger S. Nuclear-encoded

- rDNA group I introns: origin and phylogenetic relationships of insertion site lineages in the green algae [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1996, **13**(7): 978-989.
- [21] Lu G, Moriyama E N. Vector NTI, a balanced all-in-one sequence analysis suite [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2004, **5**(4): 378-388.
- [22] 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.
- [23] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(12): 2725-2729.
- [24] 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.
- [25] Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 2014, **30**(9): 1312-1313.
- [26] Hegewald E, Hangata N. Phylogenetic studies on Scenedesmaceae (Chlorophyta) [J]. *Archiv Für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 2000(100): 29-49.
- [27] Hegewald E, Hanagata N. Validation of the new combinations of *Coelastrella* and *Neodesmus* and the description of the new subfamily Desmodesmoideae of the Scenedesmaceae (Chlorophyta) [J]. *Archiv Für Hydrobiologie*, 2002, **105**(suppl.): 7-9.
- [28] Kawasaki S, Yoshida R, Ohkoshi K, *et al.* *Coelastrella astaxanthina* sp. nov. (Sphaeropleales, Chlorophyceae), a novel microalga isolated from an asphalt surface in midsummer in Japan [J]. *Phycological Research*, 2020, **68**(2): 107-114.
- [29] Song H Y. Identification and taxonomical notes of coccoid green algae [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2015: 17-18. [宋会银. 球状绿藻的分离纯化与分类鉴定 [D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2015.]
- [30] Wang Q H, Song H Y, Liu X D, *et al.* *Coelastrella chongqingensis* sp. nov., a novel species of the subaerial coccoid green algae within the *Coelastrella* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, **45**(6): 1351-1360. [王清华, 宋会银, 刘旭东, 等. 亚气生球状绿藻一新种——重庆单星藻 [J]. 水生生物学报, 2021, **45**(6): 1351-1360.]
- [31] Tschäikner A G, Kofler W. *Coelastrella aeroterrestica* sp. nov. (Chlorophyta, Scenedesmaceae) a new, obviously often overlooked aeroterrestrial species [J]. *Algal Studies*, 2008(128): 11-20.

THE SYSTEMATIC STUDY OF *COELASTRELLA* FROM CHINA

WANG Qing-Hua¹, HOU Ying¹, LIU Mei¹, LIU Xu-Dong² and LIU Guo-Xiang³

(1. College of Biological Sciences and Technology, Taiyuan Normal University, Jinzhong 030619, China; 2. School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. Key Laboratory of Algal Biology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: The genus *Coelastrella* was taxonomically positioned within the family Scenedesmaceae (Sphaeropleales, Chlorophyceae) by Chodat in 1922, with *Coelastrella striolata* designated as the type species. In recent years, many studies have highlighted the promising potential of the genus *Coelastrella* in natural carotenoids and lipids production, as well as wastewater treatment. So far, 18 species and 2 varieties of this genus have been reported worldwide. However, the study on this genus has been relatively limited in our country, leading to gaps in our understanding of its diversity and geographical distribution. This study aimed to address these gaps by collecting 29 *Coelastrella* strains from various regions in China. Morphological and phylogenetic analyses were conducted using 18S rDNA, ITS, and *tufA* molecular markers. Among them, the *tufA* showed the highest efficiency in the taxonomic revision of genus *Coelastrella*. The results systematically organized 10 *Coelastrella* species and 2 varieties previously recorded in China. Additionally, three newly recorded species were discovered, that were *Coelastrella multirata*, *Coelastrella terrestris*, and *Coelastrella aeroterrestica*. Furthermore, the morphological difference were summarized among the four phylogenetic clades of this genus. The discovery of these species has filled the void of core *Coelastrella* branch specimens in China, enhancing the species diversity of the *Coelastrella* genus in our country. This finding serves as a foundation for further classification revision and resource development.

Key words: Morphology; Phylogeny; New record in China; *Coelastrella*