

# 沙菜属(红藻门 杉藻目)的分类学问题探讨

刘金梅, 黄冰心, 马鑫, 王雪聪, 闫璟, 闫盼竹, 丁兰平

(天津师范大学 生命科学学院, 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387)

**摘要:** 沙菜属(*Hypnea*)是卡拉胶生产的重要经济栽培物种, 但该属具有复杂的命名史和物种分类难题, 其广泛的地理分布、高度的遗传变异以及较强的表型可塑性, 存在许多同物异名和形态趋同的现象, 导致其物种鉴定中出现了一系列的争议。因此, 本文尝试总结分析沙菜属分类中存在的问题, 以及涉及“物种”定义的初步探讨, 特别是基因树与物种树的关联性, 以期为解决该属分类学问题提供一定的参考思路。

**关键词:** 沙菜属; 分类; 隐存种; 物种; 分子标记

**中图分类号:** Q945.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2021)08-0109-09

**DOI:** 10.11759/hyxx20201026002

大型海藻作为海洋生态系统中重要的初级生产力, 在水体净化和生态修复等方面发挥着不可或缺的作用, 具有重要的生态功能<sup>[1-2]</sup>; 此外, 大型海藻可食用<sup>[3]</sup>、药用<sup>[4]</sup>等, 具有巨大的经济价值。但在利用大型海藻之前, 认识它们并将其放在正确的分类系统位置上极为必要。其中, 红藻门中的沙菜属(*Hypnea*)就是这方面的典型代表。

沙菜属作为一类大型海藻, 其细胞壁富含卡拉胶(约占干重的 25%~48%), 广泛应用于商业生产<sup>[5-6]</sup>。目前, 该属物种在全球范围内广泛栽培(特别是巴西), 栽培量仅次于麒麟菜属(*Eucauma*)物种<sup>[7]</sup>, 在卡拉胶的提取工艺<sup>[8-9]</sup>、栽培<sup>[10]</sup>和生理生化<sup>[11-13]</sup>等方面具有丰富的研究报道。然而, 虽然该属物种在食品、工业和医疗领域的作用已研究得比较充分<sup>[14-16]</sup>, 但在基础分类学方面还有很多问题困扰着学者, 亟待解决。

沙菜属于 1813 年建立, 隶属于红藻门 Rhodophyta、杉藻目 Gigartinales, 模式种为钩沙菜 *H. musiciformis* (Wulfen) J. V. Lamouroux。近年来, 沙菜属被证明是单系类群<sup>[17-22]</sup>, 但经历了复杂的命名和物种分类变动过程<sup>[22]</sup>。该属物种藻体一般直立或缠结, 具有刺状小枝, 四分孢子囊生于最末小枝或分枝上、层形分裂, 囊果球形、无柄<sup>[23-26]</sup>。目前, 沙菜属在分类学上所接受的物种有 61 种, 广泛分布于太平洋、印度洋和大西洋的热带和亚热带海域。然而, 由于该属物种的广泛地理分布、强烈的表型可塑性<sup>[27]</sup>, 且物种间存在特征交叉<sup>[8]</sup>现象等, 导致反复出现如物种划分界限模糊<sup>[9]</sup>、同物异名(表 1)和隐存种(cryptic spe-

cies)<sup>[19, 21, 28-30]</sup>等分类学问题。特别是受特定环境因素的影响<sup>[17, 19, 22, 28-29]</sup>, 种内个体的形态差异变化大, 使物种划分更加复杂化。上述问题都极大地引起了分类学家们的关注, 认为沙菜属的分类仍需要针对更广泛的地域开展专题性研究, 并对物种的划分标准进行重新界定<sup>[31-32]</sup>。

但正如某些学者所提到的, 仅凭形态学特征鉴定具有高度形态变异的物种, 错误率较高<sup>[28]</sup>。因此, 随着分子生物技术的逐渐应用, 沙菜属物种的分类鉴定也已不再单纯以形态特征作为主要依据, 近年来更多地融合了分子生物学信息。如 DNA 条形码技术, 通过选取特定的标记基因, 进行 DNA 序列测序, 并与已知序列作相似度比对, 进而分析样本间的亲缘关系, 尝试探讨与解决沙菜属的分类学问题<sup>[22, 29]</sup>。目前依靠 DNA 条形码技术, 已修订了该属的许多错误鉴定, 并且发现了一些新物种<sup>[17-18, 30]</sup>。这在一定程度上表明分子鉴定方法在识别广泛分布和缺乏明确形态鉴定特征的物种方面作用明显, 但仍然不能完全解决沙菜属的分类学问题, 如: 有关该属的分子系统发育学研究主要集中在有限的地理区域和特定

收稿日期: 2020-10-26; 修回日期: 2020-12-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31670199, 31400186); 天津市教委科研计划项目(JW1705)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, Nos. 31670199, 31400186; Scientific Research Plan of Tianjin Municipal Education Committee, No. JW1705]

作者简介: 刘金梅(1996—), 研究生, 研究方向: 大型海藻的分类研究, E-mail: 1473701927@qq.com; 丁兰平(1969—), 通信作者, 教授, 研究方向: 大型海藻分类研究, E-mail: skydlp@tjnu.edu.cn

的分类单元, 并因此而命名了许多新物种(其中大多数为南大西洋特有), 然而它们与其他已知物种的系统发育关系仍然有待阐明<sup>[29]</sup>。因此, 本文尝试总结分

析沙菜属分类中存在的问题, 以及涉及“物种”定义的初步探讨, 特别是基因树与物种树的关联性, 以期为解决该属分类学问题提供一定的参考思路。

表 1 沙菜属物种的同物异名汇总

Tab. 1 List of *Hypnea* species with their synonyms

物种	建立时间	同型/异型异名
<i>Hypnea cervicornis</i>	1851	<i>Hypnophycus cervicornis</i> ; <i>H. musciformis</i> var. <i>pumila</i> ; <i>H. aspera</i> ; <i>H. boergesenii</i> ; <i>H. flexicaulis</i>
<i>H. charoides</i>	1813	<i>H. musciformis</i> var. <i>ramulosa</i> ; <i>H. divaricata</i> var. <i>ramulosa</i> ; <i>H. seticulosa</i>
<i>H. chordacea</i>	1847	<i>H. simpliciuscula</i> ; <i>H. simpliciuscula</i> ; <i>H. chordacea</i> f. <i>simpliciuscula</i>
<i>H. coccinea</i>	1990	<i>Fucus plicatus</i> var. <i>coccineus</i>
<i>H. cornuta</i>	1851	<i>Chondroclonium cornutum</i>
<i>H. ecklonii</i>	1836	<i>Hypnophycus ecklonii</i>
<i>H. filiformis</i>	1994	<i>Heringia filiformis</i>
<i>H. flagelliformis</i>	1851	<i>Hypnophycus flagelliformis</i>
<i>H. hamulosa</i>	1813	<i>Fucus hamulosus</i> ; <i>Chondria hamulosa</i> ; <i>H. valentiae</i> var. <i>hamulosa</i> ; <i>Hypnophycus hamulosus</i>
<i>H. multicornis</i>	1845	<i>Rhodomela multicornis</i> ; <i>Lophura multicornis</i>
<i>H. musciformis</i>	1813	<i>Fucus musciformis</i> ; <i>Ceramium musciforme</i> ; <i>Sphaerococcus musciformis</i> ; <i>Hypnophycus musciformis</i> ; <i>Sphaerococcus divaricatus</i> ; <i>H. rissoana</i> ; <i>H. arborescens</i>
<i>H. nigrescens</i>	1851	<i>Hypnophycus nigrescens</i>
<i>H. pannosa</i>	1847	<i>H. musciformis</i> var. <i>cornuta</i>
<i>H. ramentacea</i>	1876	<i>Chondria ramentacea</i> ; <i>H. rigens</i> ; <i>H. cystoclonioides</i> ; <i>H. ceramioides</i> var. <i>uncinata</i> ; <i>Merrifieldia ramentacea</i> ; <i>H. episcopalis</i> ; <i>H. valida</i>
<i>H. spicifera</i>	1847	<i>Gracilaria spicifera</i> ; <i>Hypnophycus spicifera</i> ; <i>Sphaerococcus musciformis</i> var. <i>armatus</i> ; <i>H. harveyi</i> ; <i>H. spicigera</i> ; <i>H. armata</i>
<i>H. spinella</i>	1847	<i>Sphaerococcus spinellus</i> ; <i>Gigartina spinella</i> ; <i>Helminthochorton spinellum</i>
<i>H. stellulifera</i>	2003	<i>H. cornuta</i> var. <i>stellulifera</i>
<i>H. valentiae</i>	1841	<i>Sphaerococcus valentiae</i> ; <i>Sphaerococcus musciformis</i> var. <i>valentiae</i> ; <i>H. musciformis</i> var. <i>valentiae</i> ; <i>Hypnophycus valentiae</i> ; <i>H. adunca</i> ; <i>H. californica</i>

## 1 沙菜属分类学的存在问题

### 1.1 沙菜属的科级分类地位探讨

关于沙菜属的科级分类地位问题, 主要涉及沙菜科(Hypneaceae)和赤叶藻科(Cystocloniaceae)。不同的学者观点不一致, 其中: Kytlin<sup>[33-34]</sup>主要针对两者的生殖结构差异进行区分, 而 Saunders 等<sup>[35]</sup>主要是基于 SSU 序列的分析, 将两者合并, 此外, 其他学者如 Chiovitti 等<sup>[36]</sup>于 1998 年选取了物种的卡拉胶组分进行研究。本文接受沿用沙菜科的观点, 其原因已被较详细探讨<sup>[37]</sup>, 因此本文不再赘述。

### 1.2 沙菜属的种级分类问题

#### 1.2.1 基于形态学的问题

沙菜属物种具有世界性分布, 表型可塑性高,

导致其物种鉴定一直存在争议。沙菜属由 Lamouroux 建立, 最初包含 5 个物种, 即 *H. musciformis*、*H. spinulosa*、*H. wighii*、*H. hamulosa* 和 *H. charoides*<sup>[23]</sup>, 其中, 前 4 个种是从褐藻门墨角藻属 *Fucus* 中转移过来的。Agardh<sup>[38]</sup>首次对沙菜属进行了系统的分类, 报道了 19 个物种, 根据习性特征将其划分为 3 个组, 即帚状组(新拟名)Section *Virgatae*、刺状组(新拟名)Section *Spinuligerae* 和垫状组(新拟名)Section *Pulvinatae*。这 3 个组的区分特征分别为: *Virgatae* 组具有主轴和密集的侧枝, 丛生且直立但不缠结; *Spinuligerae* 组的分枝交替排列且具短的刺状小枝, 丛生且缠结; *Pulvinatae* 组的藻体垫状且分枝粘连呈网结状。后续学者对这 3 个组的沙菜属物种划分方法意见不同, 其中 Tanaka<sup>[39]</sup>和 Masuda 等<sup>[32]</sup>的较为突出。Tanaka<sup>[39]</sup>接受了这三个组的分类方法, 但也强

调了内部解剖特征的重要性,他把藻体主轴和髓细胞壁是否存在镜状加厚作为两个主要特征,系统地对日本沿海沙菜属的 14 个物种进行了细致划分。Masuda 等<sup>[32]</sup>并未完全接受三组分类方法,而是总结了包括形态、解剖学以及生殖结构等 7 大类特征作为划分该属物种的依据。然而, Nauer 等<sup>[29]</sup>认为基于形态学特征的物种鉴定不准确,主要是因为群体中存在表型可塑性和形态趋同的物种,认为在 Masuda 等<sup>[32]</sup>的 7 类鉴定特征中仅有 5 类(藻体的生境、主轴、枝端形状、小枝形状和四分孢子囊着生部位)具有较大的分类学价值,特别是在判断物种分布范围时形态学具有明显的优势。

### 1.2.2 基于系统发育分析的问题

随着分子生物学技术在藻类分类研究中的应用,越来越多的研究揭示了环境条件有时会改变沙菜属物种的形态特征<sup>[17, 19, 28-30]</sup>,因此认为其分类鉴定不能单纯以形态特征为依据,进而在表型特征的基础上引入了基因型数据,这也使得沙菜属的物种分类工作更加复杂化。Geraldino 等<sup>[17]</sup>首次通过分子数据对上述的沙菜属 3 组分类法的有效性进行了评估,基于 *rbcL* 和 *psaA* 联合构建的系统发育树分为 3 个主要支系,对应着上述的基于形态学的 3 个组(*Pulvinatae* 组、*Virgatae* 组和 *Spinuligerae* 组),证实 Agardh (1852)<sup>[38]</sup>的三组分类法基本上是合理的。但基于形态与分子的结果并不是完全对应,如在形态学上属于 *Spinuligerae* 组<sup>[39]</sup>的冻沙菜 *H. japonica* 被聚类到分子系统发育树的 *Pulvinatae* 组,而在形态学上属于 *Pulvinatae* 组的小沙菜 *H. spinella* 被聚类到 *Spinuligerae* 组。Nauer 等<sup>[18]</sup>在基于 *rbcL* 的系统发育研究中分析了 129 个沙菜属样品,也支持了 Agardh<sup>[38]</sup>的 3 组分类法,其中 *Virgatae* 组具有较高的支持率,*Pulvinatae* 组支持率适中(该支系物种主要来自太平洋,没有来自大西洋西南部的代表物种),*Spinuligerae* 组的支持率则受统计分析方法影响(MB 具有高支持、ML 具有中等支持)。De Jesus 等<sup>[20]</sup>基于 *rbcL* 系统发育树上的一个支系(包含 *H. aspera*、*H. chordacea*、*H. cornuta*、*H. flexicaulis*、*H. musciformis*、*H. flagelliformis*、*H. stellulifera* 和 *H. tenuis* 等 8 种)与 Geraldino 等<sup>[17]</sup>的系统发育树中 *Virgatae* 组相对应,然而这个支系中的 8 个种却分属于 Agardh<sup>[38]</sup>的 3 组分类法中的 *Virgatae* 组和 *Spinuligerae* 组(*H. cornuta* 和 *H. stellulifera*),因此作者认为 *Virgatae* 组在形态和分子鉴定之间存在分歧,且可能是加入了

南美序列的结果。之后, De Jesus 等<sup>[22]</sup>再次对 Agardh<sup>[38]</sup>的 3 组形态分类法和 Geraldino 等<sup>[17]</sup>分子结果的对应性进行了验证。他们利用包含南美的 32 个沙菜属物种(物种数: *Spinuligerae* 组>*Pulvinatae* 组>*Virgatae* 组),通过单基因(*rbcL*)和三基因(COI-5P, *psaA*, *rbcL*)联合的系统发育分析,得出如下结果: 1) 基于形态学的 3 组类型的物种分别聚类在系统发育树的多个不相关分支中; 2) 在系统发育树中的 *Spinuligerae* 组进化支中存在高度的形态变异物种,如形态学上属于 *Spinuligerae* 组的部分物种可呈现形态学的 *Virgatae* 组形态; 3) 进化支与形态学不一致,如在形态学上属于 *Spinuligerae* 组<sup>[38-39]</sup>的物种(*H. charoides*, *H. japonica*, *H. valentiae*)却分散聚类在系统发育树的 *Pulvinatae* 组分支上; 4) 即使系统发育分析上 *Pulvinatae* 和 *Virgatae* 组具有较好的支持率,但在形态学特征上也缺乏足够的一致性,因此他们认为形态学上的 3 组分类法(*Virgatae* 组, *Spinuligerae* 组, *Pulvinatae* 组)不能反映该属的真正进化史,应该被否决。

Agardh<sup>[38]</sup>的形态 3 组分类法是主要基于北大西洋的样品归纳总结出的一种比较系统且可靠的沙菜属分类方法,在一定程度上也适于北太平洋的沙菜属分类<sup>[17-18]</sup>。但是,随着地理分布区域的扩展和生境的不断变化,物种表型特征的高度变异以及形态趋同衍化,使得这种 3 组分类法的普适性也随之降低,分子系统发育学方法却在解决这些问题方面逐渐显示了优势<sup>[18, 22, 30]</sup>。然而,基因型数据的引入使得沙菜属的物种分类工作越趋复杂。基于分子系统发育分析研究,不同学者对 Agardh<sup>[38]</sup>的 3 组分类法也持不同的观点<sup>[17-18, 20, 22]</sup>,说明分子方法是否适于解决沙菜属的分类学问题仍有待探讨。

### 1.3 隐存种问题

近年来均有藻类新物种的报道<sup>[18, 29-30, 40]</sup>,说明自然界可能仍然存在有许多未被描述的物种,尤其具有高度“隐蔽性”(物种间的特征高度相似)的物种,会导致藻类物种多样性的错误估计。目前,在许多大型红藻门类中已经证实存在大量的隐存种或鉴别错误的物种,其多样性甚至高于以往对某些特定种群的认识<sup>[41]</sup>,比如杉藻目沙菜属的隐存种现象。隐存种,指表型近似但生殖隔离的物种。沙菜属目前已被报道 97 个物种,但有效种仅为 61 种,其中基于 DNA 的识别方法发现了一些沙菜属物种

内隐藏的物种多样性,据初步统计该属内已报道了 9 个隐存种<sup>[19, 21, 28-30]</sup>。目前沙菜属的隐存种主要包含在多个突出的物种复合体(species complex)中,即 *Hypnea charoides-valentiae* complex<sup>[28]</sup>、*H. musciformis* complex<sup>[19, 29]</sup>和 *H. cornuta* complex<sup>[21, 30]</sup>等。这些物种复合体拥有极其相似的表型特征,常导致物种鉴定错误,因此许多学者尝试着对这些隐存种问题进行了研究<sup>[19, 28-30]</sup>。仅 Nauer 等<sup>[19, 29]</sup>就从最初鉴定为钩沙菜(*H. musciformis*)的物种中陆续发现了 3 个隐存种,说明现存的这些物种复合体或尚未被发现的物种复合体仍有待进一步研究才能获得更明确的近缘物种划分。De Jesus 等<sup>[30]</sup>对 *H. cornuta* complex 的研究认为需要对模式或正模标本进行测序,才能确定法定的狭义物种。然而,若模式标本存在年代久远,如 200 年等,如何以物种进化角度有效地解释狭义物种的遗传变异也是值得探讨的问题。因此,只有综合运用形态学、命名史(含进化史)、分子数据、生物地理学和生态学等多种证据进行全面研究,才有可能准确地解决广泛分布的物种包括隐存种的分类学地位问题<sup>[29-30]</sup>,进而重新评价其真实的生物地理分布。

总的来说,沙菜属的隐存种问题在杉藻目的分类研究中仍然是个突出且有待解决的分類难题,该属隐存种问题的解决对物种分类地位的确定具有重要的分类学意义。解决了隐存种问题,对其他学科,如生态学中对物种多样性的低估或高估<sup>[42]</sup>,在应用生态学中对特定物种作用的正确评价以及对自然资源的保护和管理等都具有重要的意义。

#### 1.4 分子标记的使用问题

准确的物种划分是藻类分类学乃至所有生物分类的巨大挑战,特别是对于上文所提到的隐存种问题。传统的形态学方法因量化尺度问题很难应用到基于形态学特征或解剖学特征难以区分的群体或物种复合体<sup>[43]</sup>中,因此基于 DNA 分子标记的界定方法为分类学家们提供了相对快速和可信度较高的物种界定机会,也促进了沙菜属的分类学以及系统发育学的研究(表 2)。目前,用于沙菜属的物种鉴定和系统发育关系的分子标记,主要有 *rbcL*、*cox1*、SSU rDNA、UPA、*psaA* 等。但以上这些分子标记在沙菜属的分类研究中或多或少都存在一些问题,仍然无法界定某些亲缘关系不确定的物种,如 Geraldino 等<sup>[44]</sup>发现越南的小沙菜(*H.*

*spinella*)的 *rbcL* 序列与来自日本的相同,但与北美样本存在较大差异;Geraldino 等<sup>[17]</sup>在随后的研究中,也发现另一物种的亲缘关系有待确认,即非洲(南非德班港,印度洋西南侧)的 *H. viridis* 与墨西哥(墨西哥瓦哈卡州,南临太平洋)和菲律宾的巢沙菜(*H. pannosa*)为姊妹种,而在 *cox1* 序列的系统发育树中非洲的 *H. viridis* 与菲律宾的巢沙菜的亲缘关系比墨西哥的巢沙菜的亲缘关系更近<sup>[17]</sup>。除此之外,De Jesus 等<sup>[22]</sup>的研究也发现了一些问题,在他们的 *rbcL* 系统发育树上, *Hypnea* sp. 1(日本, AB033166, Yamagishi and Masuda<sup>[28]</sup>; 越南, EU240849, Geraldino 等<sup>[44]</sup>)与巴西的 *Hypnea flava* 关系密切, *Hypnea* sp. 2(日本, AB033167, Yamagishi and Masuda<sup>[28]</sup>)与巴西和巴巴多斯(拉丁美洲国家)的小沙菜组成了垫状组的物种, *Hypnea* sp. 3(美国佛罗里达, AF3856351, Hommersand and Fredericq<sup>[45]</sup>)则与其他相关研究<sup>[17, 20]</sup>一样,在发育树上显示为沙菜属中较早的演化支,而这 4 个样品在各自最初基于 *rbcL* 系统发育分析的文献中均鉴定为小沙菜。因此,De Jesus 等<sup>[22]</sup>认为这 4 个样品的鉴定存有疑问,需要重新进行鉴定,表示可将有效的分子标记与更多同物种的数据结合起来,并结合形态学研究来提供准确的物种界定。

总的来说,分子数据是对传统形态学研究的一种补充。以上的分子标记在沙菜属的物种识别和界定中在一定程度上被证明是有用的和必要的,尤其是 COI-5P,它们揭示了在形态学中无法关注到的现象,如物种的隐型多样性。但在分子研究中也存在着异常的分类单元,甚至在同种个体之间,同种分子标记的变异程度也不同,有时分子方法的一致性也并不总是最佳的,特别是在物种复合体内<sup>[43]</sup>表现尤甚。此外,有研究发现,小样本量会将某些隐存种错误鉴定为其他物种,不能识别出真正的物种差异<sup>[46]</sup>。因此,即使目前 DNA 条形码技术在分类研究中具有不可比拟的优点,但也应该看到该技术在藻类中的研究起步晚,仍不成熟,数据库中的物种数据不全以及上传的序列信息可能会存在序列错误或命名错误等问题,可能导致分析结果不可靠或找不到可参考的数据,这些都会成为物种分类在分子鉴定上的难点。DNA 条形码的效果本质上取决于 DNA 的质量和引物的选择<sup>[47]</sup>,且基因区域的选择也是影响物种识别的因素之一。目前,基于已形成的自然界成千

上万物种，动植物界对物种的界定主要基于生殖隔离，考虑到生殖会贯穿物种的始终，且作为关键鉴定依据的特征，在往后的研究工作中是否可以寻找

与物种生殖发育相关的基因代替目前广泛采用的功能基因应用到藻类的分类学研究中，或许是个值得尝试的方向。

表 2 沙菜属分子标记的使用情况

Tab. 2 Use of molecular markers in genus *Hypnea*

分子标记	作者	年份	结果
<i>rbcL</i>	Yamagishi and Masuda	2000	对 <i>H. charoides-valentiae</i> complex 系统发育分析，区分了易曲沙菜与长枝沙菜
SSU rDNA	Saunders, Chiovitti, Kraft	2004	对沙菜属及其亲缘关系物种系统发育分析，建议沙菜科合并到赤叶藻科
<i>rbcL</i> 和 <i>cox1</i>	Geraldino, Yang, Boo	2006	对易曲沙菜分析，认为 <i>cox1</i> 可用于沙菜属的物种鉴定
SSU rDNA、 <i>rbcL</i> 和 <i>cox1</i>	Geraldino, Yang, Kim	2009	对亚洲沙菜系统发育分析，认为 <i>cox1</i> 作为 DNA 条形码对分析红藻门物种具有价值以及多基因准确评估至关重要
<i>rbcL</i> 和 <i>psaA</i>	Geraldino, Riosmena-Rodriguez, Liao, et al.	2010	验证了沙菜属为单系类群和 Agardh(1852)三组分类方法的有效性
<i>rbcL</i> 和 <i>cox1</i>	Wolf, Sfriso, Andreoli, et al.	2011	系统发育分析和形态学特征确认易曲沙菜为地中海的入侵物种，DNA 条形码结合形态学是快速鉴定外来物种的手段
COI-5P 和 UPA	Nauer, Guimarães, Cassano, et al.	2014	对巴西沙菜属物种系统发育分析，认为 COI-5P 是一种区分该属物种的有效工具，能解决物种鉴定和表型可塑性问题，UPA 也能用于区分沙菜属
<i>cox1</i> 、UPA 和 <i>rbcL</i>	Jesus, Silva, Mattos, et al.	2015	对 <i>H. stellulifera</i> 系统发育分析，发现 UPA 最保守和 <i>cox1</i> 最可变， <i>rbcL</i> 处于两者之间，认为这三个标记都是研究沙菜属的有效 DNA 条形码标记
<i>rbcL</i> 和 COI-5P	Vázquez-Delfin, Boo, Rodríguez, et al.	2016	对 <i>H. musciformis</i> 不同生活史阶段形态变异研究，认为形态学与分子标记的综合应用可更好了解物种分类及系统发育
COI-5P 和 <i>rbcL</i>	Jesus, Nauer, Lyra, et al.	2016	结合其他一些 DNA 的界定方法纠正了鹿角沙菜的一些同物异名
COI-5P 和 <i>rbcL</i>	Jesus, Pestana, Affe, et al.	2019b	揭示了 <i>H. cornuta</i> complex 的隐存种问题
COI-5P、 <i>psaA</i> 和 <i>rbcL</i>	Jesus, Nauer, Lyra	2019a	推荐了最新的沙菜属系统发育关系
COI-5P、 <i>rbcL</i> -3P 和 UPA	Nauer, Jesua, Cassano, et al.	2019	认为这三个标记在种内和种间变异、条形码缺口之间没有重叠，能有效区分巴西沙菜属的不同种类， <i>rbcL</i> -3P 比 UPA 更优于代替 COI-5P 进行物种鉴定
<i>rbcL</i> 和 <i>cox1</i>	Cabrera, O'Shields, Diaz-Larrea, et al.	2020	分析了古巴沙菜属的物种多样性，证实古巴存在 <i>H. musciformis</i> 、 <i>H. spinella</i> 和 <i>H. cryptica</i>

## 2 分类学中的物种定义问题

藻类分类最先涉及的是“物种”定义问题。在过去的研究中，物种定义的不一致性虽然没有阻碍藻类分类学的发展，但不可否认“物种”仍是个值得再次讨论的问题<sup>[42]</sup>。物种，简称种，是生物分类的基本单位。在许多生物学的相关领域中，如生物地理

学<sup>[47]</sup>、生态学<sup>[49]</sup>、保护生物学<sup>[50]</sup>等，物种常作为研究分析的基本单位，但不同领域的专家学者往往从不同的角度去定义物种。据 Claridge 等<sup>[51]</sup>统计，物种定义有 22 种之多。虽然大多数的物种概念是相关的，但始终没有一个是完全令人满意的，并且大多数物种定义至少是部分不相容的，因此它们可以导致关于物种边界的不同结论<sup>[52]</sup>。在目前的藻类分类学中，

主要涉及生物学种、形态学种和系统发育种<sup>[53]</sup>，特别是系统发育种受到了现今分类学家的推崇。比如，在粗糙沙菜(*H. aspera*)、密毛沙菜(*H. boergesenii*)、鹿角沙菜(*H. cervicornis*)和易曲沙菜(*H. flexicaulis*)的许多分类学研究中，它们均作为独立的物种对待，但是有学者却基于系统发育学的分析将这四个种统一合并为鹿角沙菜；然而，在一些系统发育学研究中，不同学者根据不同方法所获得的结果也不太一致，有时矛盾还比较明显<sup>[17-21, 44]</sup>，因此有学者通过探讨它们之间的关系，在基于形态学的基础上又认为它们是不同的种<sup>[37]</sup>。除了沙菜属的分类研究之外，目前几乎所有物种的系统发育学研究，大多数是将基因树等同于物种树对待，认为基于相关基因构建的系统发育树上的演化支代表某一物种或某一类群<sup>[22-23]</sup>，但基因树并不完全等同于物种树，基因树所反映的是基因的演化史，而物种则是由一系列基因表达组成的表型集合，且基因在演化的过程中会发生杂交/渐渗、不完全谱系分选、基因重复、基因丢失或基因水平转移等事件<sup>[42, 54]</sup>，导致基因的进化与物种的分化不一致。大量基因树的应用，弱化了真实“物种”的关键鉴定特征(如生殖隔离)的重要性，扩大了基因树与物种树之间的差异。就目前的研究现状来说，分子方法显著地扩大了经典形态分类中对物种各级分类系统的划分界线，其本质往往是扩充了传统生物学中对“物种”的定义。在目前生物的系统发育学研究中，大多数是以功能性的分子标记为依据的亲缘关系划分，这不仅会模糊当前生物学中坚守的真实“物种”界定标准，也可能人为地抬升遗传学中具有相同或相似遗传功能性特征的“品种”、“品系”等种下单位为种级界定标准<sup>[55]</sup>，而这种为物种或更高级分类系统划分制造的新标准，也导致了目前物种分类及分类系统的混乱局面。

### 3 结论

生物多样性的加速丧失和大量未被发现的物种在一定程度上已经产生了分类学危机，需要更有效的方法对物种进行划分<sup>[56]</sup>。物种的分类和系统发育关系依赖于物种作为其主要的研究单位<sup>[57]</sup>，准确的物种划分是系统发育学、生物地理学、生态学和保护生物学研究的关键，而不准确的物种界定或未确认的物种则会严重影响生物多样性的评估和对物种进化关系的了解<sup>[57]</sup>等。沙菜属广泛的地理分布，形态简单，表型可塑性强，形态趋同，大量的同物异名等

现象，这些原因都致使该属物种在鉴定中难度系数加大，从而出现了一系列分类学问题。解决这些问题，很大程度上是依赖对不同分子标记的分析，从而达到明确物种亲缘关系的目的。但在研究中可能会因为个体数量太少，而基因变异的区域存在高度变异的特点，导致将个体变异误以为是物种水平变异，未能识别出真正的物种差异<sup>[46]</sup>。且从遗传学角度来看，物种的表型往往是由多基因控制，在已知的研究中不同学者普遍选择了涉及光合和呼吸等的功能基因片段(如 COI、*rbcL* 等)作为分子标记，这些基因是否为区分物种的关键基因还有待商榷，若非关键基因，目前基于它们开展的相关研究结果的真实性则还有待探讨。因此，形态学在目前的分类研究中仍然具有不可或缺的地位。

### 4 展望

物种的形成是一个过程，因此关于物种边界的不确定性是不可避免的<sup>[42]</sup>。但在实际的分类学研究中，学者们往往试图不断扩大基因组数据分析，并在物种界定上将这种不确定性加以量化和进行一定的简化假设，获得个人理想的物种划分结果。然而，若考虑物种的真实边界——生殖隔离(高等生物)，它可能仅由少数基因控制，这种处理方法明显降低了真实边界在评价体系中的重要性。随着测序技术的成熟、建树模型不断优化以及对相关问题认识的深入等前提下，不管是沙菜属还是其他物种，通过形态学和解剖学研究的深入，并结合更多的分类单元以及用于划分等级和置信度高的边界分子标记的加入，当其达到足以代表整个物种或家族在给定基因区域的差异时，将可能最大限度地阐明它们的演化过程和亲缘关系，从而为物种的精确鉴定提供必要的科学依据。因此，如何界定物种的边界可能是一个有探讨价值的问题。

#### 参考文献:

- [1] 李岩, 付秀梅. 中国大型海藻资源生态价值分析与评估[J]. 中国渔业经济, 2015, 33(2): 57-62.  
LI Yan, FU Xiumei. Analysis and valuation of ecological value of large macroalgae in China[J]. Chinese fisheries economic, 2015, 33(2): 57-62.
- [2] 杨宇峰. 近海环境生态修复与大型海藻资源利用[M]. 北京: 科学出版社, 2016.  
YANG Yufeng. Ecological restoration of offshore environment and utilization of macroalgae resources[M]. Beijing: Science Press, 2016.

- [3] 赵素芬, 孙会强, 梁钧志, 等. 湛江海域 6 种常见经济海藻的营养成分分析[J]. 广东海洋大学学报, 2009, 29(1): 49-53.  
ZHAO Sufen, SUN Huiqiang, LIANG Junzhi, et al. Nutrient component analysis of six kinds of economic algae in Zhanjiang Sea Area[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2009, 29(1): 49-53.
- [4] 马志华. 海藻的药用价值[J]. 海洋信息, 1994(12): 19-20.  
MA Zhihua. Medicinal value of seaweed[J]. Marine Information, 1994(12): 19-20.
- [5] KNUTSEN S H, MURANO E, D'AMATO M, et al. Modified procedures for extraction and analysis of carrageenan applied to the red alga *Hypnea musciformis*[J]. Journal of Applied Phycology, 1995, 7(6): 565-576.
- [6] PEREIRA S A, KIMPARA J M, VALENTI W C. A bioeconomic analysis of the potential of seaweed *Hypnea pseudomusciformis* farming to different targeted markets[J]. Aquaculture Economics & Management, 2020, 24(4): 507-525.
- [7] BAST F, BHUSHAN S, JOHN A A. Morphological and molecular assessment of native carrageenophyte *Hypnea valentiae* (Cystocloniaceae, Gigartinales) in Indian Subcontinent[J]. Phytos, 2014, 44(1): 52-58.
- [8] CASTELAR B, REIS R P, AZEREDO F, et al. *Hypnea musciformis*: alternative or complement to the production of *Kappaphycus alvarezii* introduced in tropical countries[J]. Aquaculture Research, 2015, 47(11): 3538-3550.
- [9] SOUZA R B, FROTA A F, SILVA J, et al. In vitro activities of kappa-carrageenan isolated from red marine alga *Hypnea musciformis*: Antimicrobial, anticancer and neuroprotective potential[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 1248-1256.
- [10] GANESAN M, THIRUPATHI S, JHA B. Mariculture of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux in South east coast of India[J]. Aquaculture, 2006, 256(1/4): 201-211.
- [11] DE FAVERI C, SCHMIDT E C, SIMIONI C, et al. Effects of eutrophic seawater and temperature on the physiology and morphology of *Hypnea musciformis* J.V. Lamouroux (Gigartinales, Rhodophyta)[J]. Ecotoxicology, 2015, 24(5): 1040-1052.
- [12] DING L, MA Y, HUANG B, et al. Effects of seawater salinity and temperature on growth and pigment contents in *Hypnea cervicornis* J. Agardh (Gigartinales, Rhodophyta)[J]. BioMed Research International, 2013, 1-10.
- [13] RIBEIRO A L N L, CHIOZZINI V G, BRAGA E S, et al. Physiological responses and biofilter potential of *Hypnea aspera* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in different availabilities of nitrate, ammonium, and phosphate[J]. Journal of Applied Phycology, 2016, 29(2): 683-694.
- [14] MONIQUE G D C F A, ALMEIDA-LIMA J, PAIVA A, et al. Extraction process optimization of sulfated galactan-rich fractions from *Hypnea musciformis* in order to obtain antioxidant, anticoagulant, or immunomodulatory polysaccharides[J]. Journal of Applied Phycology, 2016, 28(3): 1931-1942.
- [15] BOUZON Z L, FERREIRA E C, SANTOS R D, et al. Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in vitro[J]. Protoplasma, 2012, 249(3): 637-650.
- [16] CAIRES T A, COSTA I O, JESUS P B, et al. Evaluation of the stocks of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta: Gigartinales) on two beaches in Bahia, Brazil[J]. Brazilian Journal of Oceanography, 2013, 61(1): 65-71.
- [17] GERALDINO P J L, RIOSMENA-RODRIGUEZ R, LIAO L M, et al. Phylogenetic relationships within the genus *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta), with a description of *H. caespitosa* sp. nov.[J]. Journal of Phycology, 2010, 46(2): 336-345.
- [18] NAUER F, GUIMARÃES N R, CASSANO V, et al. *Hypnea* species (Gigartinales, Rhodophyta) from the southeastern coast of Brazil based on molecular studies complemented with morphological analyses, including descriptions of *Hypnea edeniana* sp. nov. and *H. flava* sp. nov.[J]. European Journal of Phycology, 2014, 49(4): 550-575.
- [19] NAUER F, CASSANO V, OLIVEIRA M C. Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rhodophyta)[J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(6): 2405-2417.
- [20] DE JESUS P B, SILVA M S, LYRA G DE M, et al. Extension of the distribution range of *Hypnea stellulifera* (Cystocloniaceae, Rhodophyta) to the South Atlantic: Morphological and molecular evidence[J]. Aquatic Botany, 2015, 123: 26-36.
- [21] DE JESUS P B, NAUER F, LYRA G DE M, et al. Species-delimitation and phylogenetic analyses of some cosmopolitan species of *Hypnea* (Rhodophyta) reveal synonyms and misapplied names to *H. cervicornis*, including a new species from Brazil[J]. Journal of Phycology, 2016, 52(5): 774-792.
- [22] DE JESUS P B, NAUER F, LYRA G DE M, et al. Phylogenetic relationships within the genus *Hypnea* (Cystocloniaceae, Rhodophyta): convergent evolution and its implications in the infrageneric classification[J]. Botanic Marina, 2019a, 62(6): 563-575.
- [23] LAMOUREUX J V F. Essai sur les genres de la famille des Thalassiophytes non articulées[M]. Paris: Annales

- du Muséum d'Histoire Naturelle, 1813.
- [24] YOSHIDA T, 1998. Marine algae of Japan[M]. Tokyo: Uchida-Rokakuko, 1998.
- [25] WOMERSLEY H B S. The marine benthic flora of southern Australia, Part IIIA, Bangiophyceae and Florideophyceae (Acrochaetiales, Nemaliales, Gelidiales, Hildenbrandiales and Gigartinales sensu lato)[M]. Canberra: Australian Biological Resources Study, 1994: 1-508.
- [26] 夏邦美, 张峻甫. 中国海藻志: 第二卷 第五册 红藻门 伊谷藻目 杉藻目 红皮藻目[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- XIA Bangmei, ZHANG Junfu. Flora algarum marinarum sinicarum: Tomus II, NO. V, Rhodophyta, Ahnfeltiales, Gigartinales, Rhodymeniales[M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [27] REIS R P, LEAL M C R, YONESHIGUE-VALENTIN Y, et al. Efeito de fatores bióticos no crescimento de *Hypnea musciformis* (Rhodophyta-Gigartinales)[J]. Acta Botanica Brasilica, 2003, 17(2): 279-286.
- [28] YAMAGISHI Y, MASUDA M. A taxonomic revision of a *Hypnea charoides* - *valentiae* complex (Rhodophyta, Gigartinales) in Japan, with a description of *Hypnea flexicaulis* sp. nov.[J]. Phycological Research, 2000, 48(1): 27-35.
- [29] NAUER F, CASSANO V, OLIVIERA M C. Description of two new Caribbean species from the *Hypnea musciformis* complex (Cystocloniaceae, Rhodophyta)[J]. Phytotaxa, 2019, 408(2): 85-98.
- [30] DE JESUS P B, COSTA A L, NUNES J M C, et al. Species delimitation methods reveal cryptic diversity in the *Hypnea cornuta* complex (Cystocloniaceae, Rhodophyta)[J]. European Journal of Phycology, 2019b, 54(2): 135-153.
- [31] VÁZQUEZ-DELFIN E, BOO G H, RODRÍGUEZ D, et al. *Hypnea musciformis* (Cystocloniaceae) from the Yucatan Peninsula: morphological variability in relation to life-cycle phase. Phycologia, 55(2), 230-242.
- [32] MASUDA M, YAMAGISHI Y, CHIANG Y M, et al. Overview of *Hypnea* (Rhodophyta, Hypneaceae)[J]. Taxonomy of Economic Seaweeds, 1997, 6: 127-133.
- [33] KYLIN H. Über die Entwicklungsgeschichte der Florideen[J]. Acta Universitatis Lundensis, 1930, 26(6): 1-104.
- [34] KYLIN H. Die Florideenordnung Gigartinales[J]. Acta Universitatis Lundensis, 1932, 28(8): 1-88.
- [35] SAUNDERS G W, CHIOVITTI A, KRAFT G T. Small-subunit rDNA sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). 3. Delineating the Gigartinales sensu stricto[J]. Canadian Journal of Botany, 2004, 82(1): 43-74.
- [36] CHIOVITTI A, KRAFT G T, BACIC A, et al. Carra-  
geenans from Australian representatives of the family Cystocloniaceae (Gigartinales, Rhodophyta), with description of *Calliblepharis celatospora* sp. nov., and transfer of *Austroclonium* to the family Areschougaceae[J]. Journal of Phycology, 1998, 34(3): 515-535.
- [37] 刘金梅, 姜晶晶, 马鑫, 等. 我国粤东沙菜属(红藻门杉藻目)的分类鉴定[J]. 热带海洋学报, 2021, 40(1): 99-110.
- LIU Jinmei, JIANG Jinjing, MA Xin, et al. Taxonomy and identification on genus *Hypnea* (Rhodophyta, Gigartinales) from eastern Guangdong, China[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2021, 40(1): 99-110.
- [38] AGARDH J G. Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur[M]. Lundae: C W K Gleerup, 1852(2): 337-720.
- [39] TANAKA T. The genus *Hypnea* from Japan[J]. Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers, 1941, 2(2): 227-250.
- [40] NAUER F, CASSANO V, OLIVEIRA M C. *Hypnea wynnei* and *Hypnea yokoyana* (Cystocloniaceae, Rhodophyta), two new species revealed by a DNA barcoding survey on the Brazilian coast[J]. Phytotaxa, 2016, 268(2): 123-134.
- [41] PAYO D A, LELIAERT F, VERBRUGGEN H, et al. Extensive cryptic species diversity and fine-scale endemism in the marine red alga *Portieria* in the Philippines[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2013, 280(1753): 20122660.
- [42] LELIAERT F, VERBRUGGEN H, VANORMELINGEN P et al. DNA-based species delimitation in algae[J]. European Journal of Phycology, 2014, 49(2): 179-196.
- [43] GARCÍA-MELO J E, OLIVEIRA C, DA COSTA SILVA G J, et al. Species delimitation of neotropical Characins (Stevardiinae): Implications for taxonomy of complex groups[J]. Plos One, 2019, 14(6): e0216786.
- [44] GERALDINO P J L, YANG E C, KIM M S, et al. Systematics of *Hypnea asiatica* sp. nov.(Hypneaceae, Rhodophyta) based on morphology and nrDNA SSU, plastid *rbcL*, and mitochondrial *cox1*[J]. Taxon, 2009, 58(2): 606-616.
- [45] HOMMERSAND M H, FREDERICQ S. Biogeography of the marine red algae of the South African West Coast: a molecular approach[J]. Proceedings of the International Seaweed Symposium, 2003, 17: 325-336.
- [46] DESALLE R., EGAN M G, SIDDALL M. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2005, 360(1462): 1905-1916.
- [47] OLLINGER N, LASINGER V, PROBST C, et al. DNA



- barcoding for the identification of mold species in bakery plants and products[J]. Food Chemistry, 2020, 318: 126501.
- [48] BROWN J H, STEVENS G C, KAUFMAN D M. The Geographic Range: Size, Shape, Boundaries, and Internal Structure[J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1996, 27(1): 597-623.
- [49] BLACKBURN T M, GASTON K J. Some Methodological Issues in Macroecology[J]. The American Naturalist, 1998, 151(1): 68-83.
- [50] PETERSON A T, NAVARRO-SIGÜENZA A G. Alternate species concepts as bases for determining priority conservation areas[J]. Conservation Biology, 1999, 13(2): 427-431.
- [51] CLARIDGE M F, DAWAH H A, WILSON M R. Species: the units of biodiversity[M]. London: Chapman and Hall, 1997: 381-423.
- [52] MALLETT J. A species definition for the modern synthesis[J]. Trends in Ecology and Evolution, 1995, 10(7): 294-299.
- [53] 胡鸿钧. 论藻类的系统发育、系统分类及生物多样性[A]. 中国藻类学会、山西大学生命科学学院. 第二届全国藻类多样性和藻类分类学术研讨会论文摘要集[C]. 中国藻类学会、山西大学生命科学学院: 山西大学生命科学学院, 2010: 2.
- HU Hongjun. Phylogeny, phylogenetic classification and biodiversity of algae[A]. Chinese Society of Phycology, College of Life Sciences, Shanxi University. Abstract of the 2nd National Symposium on Algae Diversity and Algae Classification[C]. Chinese Society of Phycology, College of Life Sciences, Shanxi University: College of Life Sciences, Shanxi University, 2010: 2.
- [54] SZÖLLÖSI G J, TANNIER E, DAUBIN V, et al. The inference of gene trees with species trees[J]. Systematic Biology, 2015, 64(1): e42-e62.
- [55] 姜晶晶, 刘金梅, 马鑫, 等. 广东汕尾凹顶藻类(红藻门)的形态分类学研究[J]. 广西科学, 2020, 27(3): 248-259.
- JIANG Jingjing, LIU Jinmei, MA Xin, et al. Study on morphological taxonomy of *Laurencia* complex (Rhodophyta) in Shanwei, Guangdong[J]. Guangxi Science, 2020, 27(3): 248-259.
- [56] DUMAS P, BARBUT J, LE RU B, et al. Phylogenetic molecular species delimitations unravel potential new species in the pest genus *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera, Noctuidae)[J]. Plos One, 2015, 10(4): e0122407.
- [57] SITES J W, MARSHALL J C. Delimiting species: a renaissance issue in systematic biology[J]. Trends in Ecology and Evolution, 2003, 18(9): 462-470.

## Discussion on the taxonomic problems of the genus *Hypnea*

LIU Jin-mei, HUANG Bing-xin, MA Xin, WANG Xue-cong, YAN Jing, YAN Pan-zhu, DING Lan-ping

(Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China)

Received: Oct. 26, 2020

Key words: *Hypnea*; classification; cryptic species; species; molecular markers

**Abstract:** The genus *Hypnea* has a significant economic value for carrageenan production; however, it has a complex nomenclatural history and taxonomic problems because of its wide geographical distribution, high genetic variation, strong phenotypic plasticity, and numerous phenomena of synonyms and morphologic convergence, all of which have led to a series of controversies in species identification. Therefore, this paper attempts to summarize and discuss the taxonomic problems of *Hypnea* as well as explore the definition of species, particularly the relationship between a gene tree and species tree, to provide some valuable references for the classification of *Hypnea*.

(本文编辑: 康亦兼)