

DNA 条形码技术在藻类分类学中的研究现状与展望

毛启迪^{1,2,3}, 杨苏文^{1,2}, 金位栋^{1,2}, 闫振广^{1,2},
闫玉红^{1,2}, 焦立新^{1,2}, 徐 彬^{1,2}, 焦巨龙^{1,2}

(1. 中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012;
2. 中国环境科学研究院湖泊水污染治理与生态修复技术国家工程实验室, 北京 100012;
3. 南昌大学资源环境与化工学院, 南昌 330031)

摘要:在对 DNA 条形码(DNA barcode)技术发展进程分析归纳的基础上,对已发表各门藻类 DNA 条形码序列进行总结。现阶段较为常用的 DNA 条形码基因主要包括 ITS、*cox1*、*rbcL* 等基因,几种常用基因片段各自存在优缺点,本文对各片段的主要问题进行了分析。其中原核蓝藻的 ITS 基因和藻胆蛋白基因可考虑作为首选 DNA 条形码,真核藻类主要考虑 ITS 和 *rbcL* 基因,很难找到像动物 *cox1* 基因可在物种鉴定中广泛通用的 DNA 条形码。不同基因片段间互补应用,并与传统形态学鉴定方法相结合可有效提高近缘藻类分类的准确性。从藻类 DNA 条形码研究的新进展及其应用前景来看,藻类 DNA 条形码的研究重点仍是加快开发新的 DNA 条形码片段并对其进行评价,为寻找理想的通用 DNA 条形码提供理论支持。

关键词:藻类;DNA 条形码;物种分类;应用研究

中图分类号:Q949.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2020)06-0009-10

现有藻类物种的鉴定和分类方法主要以形态学为主,但根据简单的外部形态和内部生理结构上的细微差异性以及高度的表型可塑性,部分藻类难以区分和鉴定(Kaczmarek, 2007),这使得藻类分类学的发展面临巨大挑战。基因组测序是对藻类分类最可靠且有效的手段(甄毓等, 2006)。但如果对所有未知序列物种进行基因组测序,耗资巨大,且与近缘物种基因序列的比对工作十分庞杂。因此,对于一般物种的研究,选择有代表性的基因片段作为分类标准,并用不同的分子标记技术区分群体之间、属种之间的遗传差异成为当前研究的主要方向。

DNA 条形码技术利用一段相对较短的标准片段,对物种进行识别和鉴定。其在动物研究中已得到广泛应用,所采用的标准片段是线粒体 *cox1*(细胞色素 c 氧化酶大亚基 1)基因中长约 650 bp 的片段(陈信忠等, 2017)。在高等植物的相关研究也在快速开展,2009 年第三届国际 DNA 条形码会议对植物 DNA 条形码达成共识,决定将叶绿体基因片

段 *rbcL*(1,5-二磷酸核酮羧化酶/氧化酶大亚基)和 *matK*(成熟酶基因)作为植物 DNA 标准条形码的核心码,同时将叶绿体基因片段 *trnH-psbA*(*trnH* 与 *psbA* 基因的间隔区)和核基因片段 ITS(内转录间隔区)作为植物 DNA 条形码的补充码(Hou et al, 2009; 周文瑾, 2016)。该技术在微生物中的研究也较为广泛,根据生物条形码协会提议,ITS 是真菌鉴定使用的主要条形码;*cox1* 基因适用于青霉,而对其他微生物鲜有报道(张穗生等, 2015)。

尽管目前国内外学者对藻类 DNA 条形码进行了一些研究,但鲜有相关文献报道。其在藻类分类学的应用中,海洋藻类居多,淡水藻类罕见,已有研究并未明确提出适合藻类通用的 DNA 条形码,可选用的基因片段非常有限,且各片段在不同类群中的应用效果不尽相同。因此,当前的研究热点仍然是选择和评价可能的条形码片段,同时进行更大规模的分析和整体评价。

1 DNA 条形码在藻分类学中的应用

近年来,DNA 条形码概念被逐渐应用于藻类分类学研究中。其具有快速识别已知物种、加快发现新种以及提高分类学信息质量等特点,为生物多样性研究提供了便捷有效的途径。

DNA 条形码在藻分类学研究中的应用,涉及的

收稿日期:2018-03-26

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务专项(2016YSKY-006)。

作者简介:毛启迪,1993年生,女,硕士研究生。E-mail: maoyiqidi1993@163.com

通信作者:杨苏文。E-mail: yangsw@craes.org.cn

核基因组序列主要包括蓝藻的 16SrDNA(16S 核糖体 RNA 基因)、23SrDNA(23S 核糖体 RNA 基因)及 ITS;真核藻类的 18SrDNA(18S 核糖体 RNA 基因)、28SrDNA(28S 核糖体 RNA 基因)和 ITS 间隔区等。20 世纪 90 年代以来,受动植物线粒体 DNA(mtDNA)研究的启发对藻类开展了类似的 mtDNA 研究工作,主要有 *cox1*、*cox2*~*cox3*(*cox2* 和 *cox3* 基因之间的片段),但并未取得理想的突破。叶绿体基因 *rbcL*、*rbcS*(1,5-二磷酸核酮羧化酶/氧化酶小亚基)、质体基因 UPA(质体 23SrDNA 区域)、*cob*(细胞色素 b)也被应用于 DNA 条形码研究中。已有研究的组合片段主要有 5.8S+ITS2 和 *cox1*+ITS+*rbcS* 等。

2 藻类 DNA 条形码研究进展

目前,藻类 DNA 条形码的研究在海洋藻类对硅藻、红藻和褐藻的研究相对较多,在淡水藻类多集中在原核蓝藻。核基因 ITS 和 28SrDNA 的 D1-D3 区,叶绿体基因 *rbcL* 和 UPA(Alison,2007),线粒体基因 *cox1* 和 *cob* 等已在硅藻(Saunders & Kucera,2012)、甲藻(Senjie,2009;Stern et al,2012)等单细胞藻类以及大型藻体(Saunders & Kucera,2012)中先后被应用;对于原核蓝藻的研究相对全面,包括 16SrDNA 及 ITS,藻胆蛋白基因 *cpcBA*(操纵子基因)和 *cpcHID*(由 *cpcH*、*cpcI* 和 *cpcD* 基因组成的操纵子序列),叶绿体基因 *rbcL*、*rbcS* 和 *psbA*(Q β 蛋白质的编码基因)等。这些基因在不同的物种中各有优势,并无适用的标准通用条形码。

为更直观反映 DNA 条形码技术在不同门藻间的研究进展,现以藻的不同类别分别综述 DNA 条形码技术在藻分类学中的应用情况。

2.1 硅藻 DNA 条形码研究

硅藻承载着大约 20% 的光合固氮量,在海洋和淡水中分布广泛,然对其多样性和地理分布知之甚少,亟需用简单快捷的方法对该群体做深入研究。

目前,硅藻已有研究的 DNA 条形码包括 5.8SrDNA、18SrDNA、28SrDNA、ITS、*cox1* 基因和 *rbcL* 等。早期 Ehara 等(2000)利用 *cox1* 基因对 8 种硅藻进行了研究,合理说明了它们之间的系统进化关系,并认为 *cox1* 基因的种间差异明显,适合作为部分硅藻如鞍型藻属 *Sellaphora* 的条形码。尽管 *cox1* 基因存在明显的种间差异,但某些种属中很难获取和测序(Evans,2007),因此不适合作为理想的 DNA 条形码。后期也有研究认为 *rbcL*-3'端

(3P)扩增测序效率极高,出现内含子的概率较小,适合作为硅藻的首选条形码(Rosa,2010),但其普适性仍需考量。Hamsher 等(2011)在对 *Sellaphora* 群体中不同基因进行尝试后,认为 28SrDNA 适合作为硅藻门的次选条形码基因,在对中心藻纲(Lee et al,2013)和骨条藻属(Kooistra et al,2008)的研究中也发现 28SrDNA 的效果最佳。另外,Zimmermann 等(2011)对核基因 18SrDNA 的 V4 区(约 400 bp)进行了评估,发现此区域也能有效区分硅藻门的不同种,反映了利用 18SrDNA 的 V4 区研究硅藻生物多样性的可靠性。核基因序列的转录间隔区(ITS)一直受到众多学者的广泛关注,Moniz 等(2010)研究发现其能快速准确地地区分硅藻纲 *Mediophyceae* 与 *Bacillariophyceae* 等类群的不同种类。而 Evans 等(2007)对淡水硅藻 *Sellaphora* 的 DNA 条形码区间的研究结果显示:4 种不同基因变异性大小依次为:ITS>*cox1*>*rbcL*>18SrDNA,ITS 种内变异大。因此限制了其作为硅藻的 DNA 条形码。

对于联合基因条形码技术在硅藻门分类学,Moniz 等(2010)发现 ITS2+5.8SrDNA 是最适宜的硅藻条形码基因。MacGillivray 等(2011)在对比 ITS、18S 和 *rbcL*-3'后建议将 *rbcL*-3'与变异率较高的 5.8S+ITS2 区域搭配使用,结果更为理想。

2.2 红藻和褐藻 DNA 条形码研究

红藻门的形态在种内和种间具有高度可变性,且易受环境影响,生活史和生殖方式复杂,因此形态学分类非常困难(吉莉等,2017)。目前对于大型红藻已研究的 DNA 条形码包括 *cox1*、UPA、28SrDNA、*rbcL* 等。其中,*cox1* 和 *rbcL* 被认为较适合作为红藻门的条形码基因(Kucera et al,2012),UPA(通用质体扩增子基因)的种间差异度也很理想,在许多类群中得到认可(黄艳等,2018)。

1999 年,Zuccarello 等(1999)首次利用 *cox1* 基因对不同地理株系的红藻进行了系统分类学研究,对同种不同个体实现了理想的区分,表明 *cox1* 基因对不同地域的同种红藻的区分有重要意义。此后,Saunders 等(2008)利用 *cox1* 基因成功区分了形态上难以分类的 3 大混合种。Robba(2006)对 31 种红藻 *cox1* 基因的研究,进一步验证了 *cox1* 基因可用于分辨近缘种。国内学者赵小波等(2012)也曾证实 *cox1* 基因作为青岛潮带红藻样品分类标准的可靠性。然而 Clarkston 等(2010)在对 102 株褶膜藻科样本进行的分类研究中表明 *cox1* 基因可用于种

的区分,并鉴定出了新物种,但部分个体的 *cox1* 基因的序列 PCR 扩增条带不清晰,影响了其作为硅藻分类的通用条形码的理想性。

Conklin 等(2009)对 15 份红藻样品的研究发现,麒麟菜属和卡帕藻属这 2 个属 UPA 序列差异很大,足以用于区分。Sherwood 等(2010)利用 3 个基因研究夏威夷红藻多样性时,发现 UPA 可以用于区分相近的物种,并能发现一些新种和隐存种;LSU 序列(核糖体大亚基序列)的差异较小,只能用于高分类阶元的物种鉴定。2012 年, Saunders 等(2012)否认了 UPA 序列在红毛菜科的适用性, Clarkston 等(2010)也证实了 UPA 不适合作为褶膜藻科分类的条形码。因此,UPA 基因作为硅藻的通用条形码也需要进一步研究。

Saunders 等(2012)曾证实红毛菜科的 *rbcL* 基因种间差异明显,基本能将红毛菜物种分类。Tan 等(2012)也认为 *rbcL* 更适合作为整个红藻门的条形码基因。但也有数据表明 *rbcL* 并不适合红藻门的分类鉴定, Hind(2013)和 Saunders(2012)对珊瑚藻属 *Chiharaea* 中的 3 个种和 2 个新变种的研究发现, *rbcL* 序列的种间差异性可能有杂交或基因渗入现象发生,还需要继续研究证实。

目前褐藻的分子系统学研究主要集中在 rDNA 基因、*cox1*、*rbcL* 和 *rbcS*(二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶的小亚基)序列分析上。已有研究结果显示, *cox1* 基因能准确地区分墨角藻属 *Fucus* (Kucera et al, 2008) 和昆布科 Laminariaceae (Daniel et al, 2009) 中的不同物种; Mattio 等(2010)对马尾藻属的研究也暗示了线粒体基因 *mtsp*(线粒体靶向信号肽)、*cox1* 和 *cox3* 作为褐藻条形码基因的可能性。而 Lane 等(2007)在对翅藻属 *Alaria* 的研究中发现,单一的 *cox1* 基因在此类群的种间差异不足,但 *cox1*-5'、ITS 及 *rbcSp* 3 个基因片段的组合能更有效地区分大部分种类。因此,多个基因结合用于鉴定褐藻成为未来其通用条形码研究的主要方向,

2.3 甲藻 DNA 条形码研究

甲藻,因大部分的基因水平转移到细胞核内的缘故,其线粒体与叶绿素体中包含了最少的基因。长期进化与复制使核基因不同拷贝之间差异甚微(Thornhill et al, 2007; Gu et al, 2013),由此产生的基因组内多态对条形码技术在此类群中的应用产生了一定影响。研究过程中,不但要筛选合适的条形码基因,还要避免某些条形码基因多态性对测序分析、引物设计及多样性评估所带来的干扰。

目前已尝试过的条形码基因包括 ITS、18SrDNA、28SrDNA、*cox1* 和 *cob* 等。Anderson 等(1994)在对不同藻属间 15 种甲藻的分类鉴定时发现,18SrDNA 和 28SrDNA 只适用于生物不同属间的分类, Wlicox(1998)和 Bakker 等(1992)均指出 18SrDNA 序列不能较好地解决同一属不同种的分类问题,ITS 和 28SrDNA 似乎更适合作为此类群的条形码基因。Gu 等(2013)对黄海海域 *Gymnodinium* 中 3 个种进化关系的研究中,证实了 28S 和 ITS 的可靠性。Daugbjerg 等(2000)通过比对部分大亚基序列,对裸甲藻属(*Gymnodinium*)中部分在分类学中存有争议的物种实现了重新划分。Litaker(2007)利用 ITS 区对 14 个属的甲藻种内种间遗传距离的研究发现,当遗传距离大于等于 0.04 时即可认为是不同的种,证明了 ITS 作为甲藻条形码基因的巨大潜力。Stern 等(2012)对甲藻的研究表明,ITS 可以有效地区分甲藻中的绝大多数种,但研究中普遍存在的基因组内多态会影响其应用,需要同其他条形码基因和其他分类鉴定方法辅助使用。

Lin 等(2009)分别比较了 18S rDNA、*cox1* 和 *cob* 作为条形码在甲藻鉴定中的作用,认为 *cob* 作为识别甲藻的 DNA 条形码具有潜在优势,但 *cob* 的种类分辨率尚不理想,且存在引物通用性不强、数据库序列稀缺等问题。Stern 等(2010)利用 *cox1* 鉴定了甲藻 15 个属中的不同种,仍无法解决一些分类中常见的问题属,如 *Alexandrium*、*Symbiodinium* 和 *Protoceratium* 等。Raho 等(2013)尝试利用 *cox1* 和 *cob* 作为区分鳍藻属(*Dinophysis*)的条形码基因,发现相对于分辨力较差的核基因和线粒体基因 *cob* 而言, *cox1* 表现出了更强的种间差异性,但也无法有效区分所有种。

近年来,许多学者在一些重要的甲藻类群的分系统研究中取得了一定成效。亚历山大藻属(*Alexandrium*)为全球分布的有毒赤潮藻之一, Adachi 等(1996)以核糖体基因 ITS 区为分类指标对日本海域不同地理株进行分析,得出日本海域 *Alexandrium* 属种间序列有显著差异,而种内个体间 ITS 区序列则非常相似;陈月琴等(1999)对中国南海海域 *A. catenella* 和 *A. tamarense* 不同地理株的 ITS 区的分析,同样获得了有意义的结果,并为设计 *A. catenella* 和 *A. tamarense* 专一性的核酸分子探针提供了分子生物学方面的理论依据和基础。部分学者利用 28S、18S 和 ITS 将包含有 3 个形态种的亚历山大藻塔玛复合群(*Atama species complex*)重新

划分成了遗传差异显著的5个新种,并提出ITS相对于18S和28S能更明确地区分此类群,且普遍存在的多态型并不会影响不同种类的准确鉴定(Wang et al, 2014; Miranda et al, 2012)。珊瑚白化过程中生态意义巨大的虫黄藻 *Symbiodinium* 也是甲藻分类中典型的问题属, Pochon 等(2012)发现除ITS区外还有3个基因(*cox1*, *rad24*, *actin*)也适合作为虫黄藻属的辅助条形码基因。LaJeunesse 等(2012)利用ITS、*cob*、23SrRNA和单拷贝微卫星 *Sym15* 基因结合形态生理学等数据定名了 *Symbiodinium minutum* sp. nov. 及 *S. psymgophilum* sp. nov. 2个新种。这为甲藻门的分子分类学的攻坚发展提供了重要的研究依据。

2.4 绿藻 DNA 条形码研究

目前已有的藻类基因序列数据库中,绿藻的序列信息仅占6%左右,已尝试过的条形码包括18SrDNA、ITS、*tufA*、*rbcL*、*cox1*、UPA、*psbA*等。其中,ITS基因在绿藻分类中表现出一定潜力,张驰等(2000)以ITS序列系统发育分析作为传统性状分析的补充,成功研究了15个衣藻种间的亲缘关系。5.8S+ITS2序列能明确区分小球藻属 *Chlorella* 的已知种,并发现新种(Bock et al, 2011),且成功地鉴定了日本沿海本土和引入的典型绿藻物种(Kawashima et al, 2013)。刚毛藻科作为绿藻中的特殊群体,除ITS有一定(较低)的成功率外,其他基因都无法区分其不同物种(丁兰平等, 2012),部分研究发现ITS和18SrDNA序列种间差异明显大于种内差异,可作为刚毛藻科分类的辅助基因(Fucikova et al, 2011)。*tufA*在鉴别海洋大型绿藻时扩增效率高(除刚毛藻属)、种间差异度大、很少存在内含子,更适合用于绿藻的分类鉴定,而*rbcL*在部分种群中明显存在的内含子严重阻碍了此基因作为理想条形码的可能性(Saunders et al, 2010)。*cox1*在某些群体(*Pseudomuriella*)中表现出明显的种间差异性,但却很难找到合适的通用引物。UPA也被认为是藻类研究非常合适的基因, Presting (2006)对叶绿体基因组保守变异区域进行了全面详细的分析,研究的14种绿藻(*Chlamydomonas*) UPA基因具有高水平的多样性,为选择理想的DNA条形码提供了很有价值的参考数据和建议。*psbA*基因编码区序列的同源性在藻类中一般为84%~90%(钟珍萍等, 1997),吴晓微等(2008)通过研究8株小球藻的*psbA*基因序列发现,基因间相似性为83.3%~98.8%,除了其中2组关系极近的小球藻相似性

高达98%之外,其他两两之间相似性为83%~93%,因此也可作为绿藻门分类鉴定备选DNA条形码序列。

2.5 蓝藻 DNA 条形码研究

蓝藻与其他藻类相比个体微小,难以根据形态标准对其进行准确的辨别。因此形态学分类往往导致蓝藻在种、属水平以及品系水平上的分类与命名存在争议(Romano et al, 2000)。Gugger 等(2002)对鱼腥藻属(*Anabaena*)和束丝藻属(*Aphanizomenon*)的研究发现,两者在系统发生树中相互交叉,印证了形态学分类的不准确性。因此基于DNA特征的分子分类方法显得尤为重要,其能更好地反映种类间的亲缘关系,实现近缘蓝藻的准确分类。

目前对蓝藻DNA条形码的研究相对较多,主要研究的基因包括16SrDNA、ITS、*rbcL*、*psbA*、*cpc* BA-IGS等。

16SrDNA序列保守性较高,常用于揭示属及属以上水平的系统发生关系。Nelissen 等(1994)利用16SrDNA序列对螺旋藻和节旋藻进行分类与鉴定,发现 *Spirulina* PCC6313 与单细胞蓝藻 *Synechococcus* PCC7002 聚为一类;王高歌等(2001)、Ballot 等(2004)的研究证实了这一结果。Suda 等(2002)用16SrDNA序列将供试的75个蓝藻株系成功分为6个组群,再次证明了其作为蓝藻分类条形码的可行性。有研究表明,ITS在生物进化过程中的变异程度一般比16SrDNA序列高,具有长度和序列上的高度变异性,可提供丰富的变异位点和信息位点,用作分子标记对较低阶元进行分类与亲缘关系研究(Baurain et al, 2002)。陈月琴等(1999)通过对我国淡水铜绿微囊藻、惠氏微囊藻以及颤藻科 *Oscillatoria* sp. 的ITS序列进行测定和分析,证实了其可作为1个精细且稳定的指标,用于蓝藻DNA条形码的研制。茅云翔等(2001)和刘金姐等(2003)对螺旋藻和节旋藻研究也证实了ITS作为分类标准的可靠性。可以看出,ITS的研究为系统进化及属种界定标准提供了分子生物学依据。

Clegg 等(1994)首先提出*rbcL*基因可用于系统发育研究。刘金姐等(2003)测定了节旋藻的*rbcL*基因序列,并与GenBank中已报道序列进行同源性分析,结果表明利用*rbcL*基因位点可明确将节旋藻和螺旋藻区分,这与茅云翔等(2001)的研究结果一致。王捷(2011)利用*rbcL*基因又成功实现了念珠藻的分类。*rbcLX*(由*rbcL*基因的3'端非编码间隔序列及*rbcX*基因的5'端组成)既有保守的

编码序列也有快速进化的片段,对近缘蓝藻有较强的分辨能力,Rajaniemi 等(2005)基于此对念珠藻、鱼腥藻的系统发育关系进行了研究。*psbA* 基因是蓝藻叶绿体基因组中的一个重要光调控基因,其同源性在藻类中一般为 84%~90% (钟珍萍等, 1997)。因 *psbA* 基因高度保守,被广泛用于较高水平如属以上水平的分子系统发育关系的比较。

藻蓝蛋白是蓝藻中一种重要的捕光色素蛋白。于平等(2002)发现极大螺旋藻和其他藻类的藻蓝蛋白氨基酸序列的同源性在 45.9%~99%。Teneva 等(2005)通过对林氏念珠藻和点状念珠藻 *cpcBA-IGS* 序列研究,发现念珠藻属是异质性的。Tan 等(2010)以 *cpcBA-IGS* 序列为分子标记,对 13 株惠氏微囊藻(*Microcystis wesenbergii*)进行分类研究,结果显示惠氏微囊藻聚为一群,表明 *cpcBA-IGS* 可以把惠氏微囊藻和其他微囊藻区分开。黄家权等(2004)对 4 种鱼腥藻的部分藻蓝蛋白基因进行全细胞 PCR 扩增,分析表明 *cpcBA-IGS* 序列可作为鉴定种及种以下的分类依据。在藻胆蛋白中,与其 α 、 β 亚基同步进化的还有 3 种连接亚基的棒状连接多肽基因 *cpcH*、*cpcI* 和 *cpcD*。杨灵勇等(2006)首次尝试以 *cpcH* 为分子标记,对钝顶节旋藻品系进行亲缘关系和分类学研究,发现其进化趋势与 16SrDNA 和 ITS 的相一致,可作为节旋藻分类与鉴定的一种新的分子标记。

gyrB 基因编码 DNA 促旋酶 β 亚基,进化速率比 16SrDNA 快,包含更多的遗传变异信息,是细菌种属分类的有效分子标记(郝云婕等,2008)。Pras-hant 等(2013)利用 *nifH* 基因证实了念珠藻属(*Nostoc*)和项圈藻属(*Anabaena*)为 2 个类群的分类结果。张晓辉(2004)首次将氢化酶大小 2 个亚基 *hoxH* 和 *hoxY* 的基因应用到节旋藻属(*Arthrospira*)和螺旋藻属(*Spirulina*)的系统分类学,通过比较核苷酸序列结果发现,螺旋藻属明显区别于节旋藻属,与茅云翔等(2001)和刘金姐等(2003)的分类结果一致。Hayes 等(2002)同时利用相邻拷贝的结构气泡(structural gas vesicle)基因的间隔非编码区(*gvpA-IGS*)、藻蓝蛋白基因内间隔区(*cpcBA-IGS*)和 rDNA 内部转录间隔区(rDNA-ITS) 3 个位点同时对固氮蓝藻进行了系统发生分析,取得了理想的结果。

3 藻类 DNA 条形码标准的筛选

迄今,已有大量 DNA 条形码被用于物种鉴定,

但对于藻类 DNA 条形码的选择并未有一个明确的标准。Kress 等(2005)和 Taberlet 等(2007)提出了理想的 DNA 条形码标准:种间应有明显的变异以鉴别所有物种,同时种内变异应足够小;DNA 条形码应尽可能标准化,即采用同一 DNA 片段来鉴定物种;DNA 片段应足够短,有利于 PCR 扩增,尤其是对 DNA 易降解的材料更有利;存在高度保守区域,便于设计通用引物,并且该 DNA 片段易扩增和测序;目标 DNA 条形码应包括足够的种系进化信息,以便对物种进行系统分类(杨倩倩等,2018)。

事实上,能完美区分藻类所有物种的 DNA 条形码并不存在,对于不同生活环境的同种藻类,在既定的 DNA 条形码片段中,也可能存在差异。因此对于不同的研究目的,以上标准并非完全适用。例如,对于同一生活环境的藻类可直接通过中间差异明显的 DNA 片段进行鉴别,而对于不同地域的同种藻类,要确定其空间差异性,则应选择对空间变异敏感的 DNA 片段。

4 藻类 DNA 条形码研究存在的问题及对策

目前在藻类中应用较多的 DNA 条形码主要是 ITS、*cox1*、*rbcL* 基因;对于蓝藻的藻胆蛋白基因也是较适合的基因片段,很难找到像动物 *cox1* 基因可在物种鉴定中广泛通用的 DNA 条形码。部分藻类有着和动植物相区分的特有遗传方式,限制了 *cox1* 作为通用条形码。不同基因在不同藻种中各有优势,有时需要组合使用才能更好地分辨近缘藻种。若选择的 DNA 条形码在基因内部含有内含子或被分成多个部分,就存在扩增和测序的问题。因此藻类 DNA 条形码的选择和研究是一个较大的难题。

为尽快解决上述问题,加大、加快藻类的测序规模和速度,特别是同属内不同近缘种的序列测定,在大规模数据的基础上进行分析,从而选择更合适的条形码序列或组合序列。同时也可借鉴形态分类中涉及的门、纲、目、科、属等筛选出不同进化级别上的藻类 DNA 条形码。形态学鉴定存在很大问题,特别是在近缘藻种的鉴定上存在很大程度的主观性,很难对其进行精确的鉴定。分子生物学有效避开了主观影响,二者结合很好地解决了这个问题。通过对不同种类个体同一段标准 DNA 标记测序并进行遗传聚类分析,然后再用形态学进行鉴定验证,不同分类鉴定方法的结合是藻类生物鉴定的一种发展趋势。已有研究显示,单凭一个基因片段很难实现种间分类,因此多基因片段联合的 DNA 条形码鉴定

系统将成为一个探索趋势。未来的DNA条形码分析方法研究也将遵循多基因、多方法、多学科结合的方向发展,有效地进行序列分析才能得出科学准确的结果。

5 总结与展望

从对国内外关于DNA条形码技术研究文献的分析中可以清楚看到,该技术已成为近年来国际上生物多样性研究的热点。虽有研究者表明传统分类学在未来将被DNA条形码取而代之,但多数学者认为,DNA条形码仅能作为传统分类学的补充,弥补其不足。

目前藻类的DNA条形码研究还不成熟,很多物种的序列并未及时上传到数据库,在数据库中已有的序列信息也可能存在序列错误、分类命名错误等问题。近年来,国际上成立了诸多关于DNA条形码的网站和组织,虽涉及藻类DNA条形码的组织还较少,但相信随着藻类的生态学效应和经济利用价值的不断发掘,会有越来越多的学者重视藻类DNA条形码技术的深入研究,使更多准确的信息被录入数据库中供研究者参考使用,该技术的研究也将会成为藻类物种分类鉴定和系统分化研究中的一种发展趋势。

已有研究尚未获得一致的藻类DNA条形码标准片段,因此当前的研究热点仍然是对可能的DNA条形码片段进行选择 and 评价,并进行更大规模的分析 and 整体研究,寻找藻类理想的通用DNA条形码将是未来研究的重点方向。且根据研究现状,DNA条形码技术并不能作为一种绝对手段,将DNA条形码技术与其他分类方法结合使用,才有助于加快精准鉴别分类及发现新物种的速度。

虽然藻类DNA条形码的研究工作进展缓慢,并存在一些问题,但随着测序技术的广泛应用,藻类的DNA条形码的研究也将日趋完善,将会为藻类的分类鉴定和新物种的发现、生物多样性的评价等研究提供准确、快速的信息,加快其研究进展。

参考文献

陈信忠,郭书林,龚艳清,2017. 鱼类DNA条形码技术的应用进展[J]. 水产科学,36(6):834-842.

陈月琴,何家苑,庄丽,等,1999. 二种淡水微囊藻rDNA16S-23S基因间隔区的序列测定与分析[J]. 水生生物学报,23(1):41-45.

陈月琴,屈良鹄,曾陇梅,等,1999. 南海赤潮有毒甲藻链状-塔马亚历山大藻的分子鉴定[J]. 海洋学报,21(3):107-

112.

茅云翔,杨官品,张宝红,等,2001. 16S rRNA基因与16S-23S rRNA转录单元内间隔区序列分析及其在节旋藻和螺旋藻分类鉴定中的应用[J]. 高技术通讯,11(6):12-18.

丁兰平,马元元,黄冰心,2012. DNA条形码技术在大型海藻学研究中的应用及前景[J]. 海洋科学,36(11):103-110.

郝云婕,韩素贞,2008. *gyrB*基因在细菌系统发育分析中的应用[J]. 生物技术通报,(2):39-41.

黄家权,高鸿,李敦海,等,2004. 全细胞PCR扩增用于鱼腥藻种类鉴定[J]. 水生生物学报,28(2):159-162.

黄艳,孙彬,何培民,2018. DNA条形码技术在大型红藻分子鉴定中的应用[J]. 基因组学与应用生物学,37(3):1321-1333.

吉莉,冯佳,南方茹,等,2017. DNA条形码在淡水红藻中的应用评价——基于串珠藻科植物[J]. 水生生物学报,41(3):643-651.

刘金姐,茅云翔,隋正红,等,2003. 节旋藻Rubisco基因部分序列的克隆和分析[J]. 高技术通讯,13(6):87-93.

王高歌,张宝红,茅云翔,等,2001. 无菌钝顶螺旋藻单细胞的制备和再生[J]. 高技术通讯,11(4):6-10.

王捷,2011. 念珠藻属(蓝藻)的分类及分子系统研究[D]. 太原:山西大学.

吴晓微,孙雪,陆开形,等,2008. 小球藻*psbA*基因的克隆与序列分析[J]. 水产科学,27(7):360-362.

杨灵勇,汪志平,曹学成,等,2006. *cpc* HID操纵子序列用于钝顶节旋藻品系分类与鉴定的研究[J]. 微生物学报,46(6):1003-1006.

杨倩倩,刘苏汶,俞晓平,2018. DNA条形码分析方法研究进展[J]. 应用生态学报,29(3):1006-1014.

于平,岑沛霖,励建荣,等,2002. 螺旋藻基因工程研究进展[J]. 科技通报,18(6):451-456.

张弛,胡鸿钧,李中奎,等,2000. 衣藻属的系统发育分析——基于形态形状和nrDNA ITS序列,武汉植物学研究,18(3):189-194.

张穗生,陈英,陈小玲,2015. 微生物DNA条形码技术的研究进展[J]. 广西科学,22(1):27-30.

张晓辉,2004. 双向氢化酶基因的克隆、分析及其在节旋藻和螺旋藻分子系统学中的应用[D]. 青岛:中国海洋大学.

赵小波,刘峰,单体锋,等,2012. DNA条形码技术在大型海藻系统学中的研究现状[J]. 海洋科学,(12):90-94.

甄毓,于志刚,米铁柱,2006. 分子生物学在微藻分类研究中的应用[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),36(6):875-878.

钟珍萍,吴乃虎,1997. 植物光合基因*psbA*的结构及表达调控综述[J]. 福建农业大学学报(自然科学版),26(3):257-261.

- 周文瑾, 2016. 植物 DNA 条形码技术的应用分析[J]. 技术与市场, 23(11): 114 - 114.
- 庄丽, 陈月琴, 1999. 蓝藻分子系统学研究进展[J]. 中山大学学报(自然科学版), 38(1): 74 - 78.
- Adahi M, Sako Y, Ishida Y, 1994. Restriction fragment length polymorphism of ribosomal DNA internal transcribed spacer and 5.8s regions in Japanese *Alexandrium* species (Dinophyceae)[J]. J Phycol, 30: 857 - 863.
- Adachi M, Sako Y, Ishida Y, 1996. Analysis of *Alexandrium* (Dinophyceae) species using sequences of the 5.8S ribosomal DNA and internal transcribed spacer regions [J]. J Phycol, 32: 424 - 432.
- Alison R Sherwood, 2007. UNIVERSAL PRIMERS AMPLIFY A 23S rDNA PLASTID MARKER IN EUKARYOTIC ALGAE AND CYANOBACTERIA 1[J]. Journal of Phycology, 43(3): 605 - 608.
- Anderson D M, Kulis D M, Doucete G I, et al, 1994. Biogeography of toxic dinoflagellates in the genus *Alexandrium* from the northeastern United States and Canada [J]. Marine Biology, 120(3): 467 - 478.
- Bakker F T, Olsen J L, Stam W T, et al, 1992. Nuclear ribosomal DNA internal Transcribed space regions (ITS - 1 and ITS - 2) define discrete biogeographic groups in *Cladophora albida* (Chlorophyta)[J]. Journal of Phycology, 28: 839 - 845.
- Ballot A, Krienitz L, Kotut K, et al, 2004. Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in three alkaline Rift Valley lakes of Kenya-Lakes Bogoria, Nakuru and Elmenteita [J]. Journal of Plankton Research, 26(8): 925 - 935.
- Baurain D, Renquin L, Grubisic S, et al, 2002. Remarkable conservation of internally transcribed spacer sequences of *arthrospira* ("spirulina") (cyanophyceae, cyanobacteria) strains from four continents and of recent and 30-year-old dried samples from africa [J]. Journal of phycology, 38(2): 384 - 393.
- Bock C, Krienitz L, Proeschold T, et al, 2011. Taxonomic reassessment of the genus *Chlorella* (Trebouxiophyceae) using molecular signatures (bar codes), including description of seven new species [J]. Fottea, 11(2): 293 - 312.
- Clarkston B E, Saunders G W, 2010. A comparison of two DNA bar-code markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp. nov. [J]. Botany, 88(2): 119 - 131.
- Clegg M T, Gaut B S, Learn G H, et al, 1994. Rates and patterns of chloroplast DNA evolution [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(15): 6795 - 6801.
- Conklin K Y, Kurihara A, Sherwood A R, 2009. A molecular method for identification of the morphologically plastic invasive algal genera *Euclima* and *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in Hawaii [J]. Journal of Applied Phycology, 21: 691 - 699.
- Daniel C M D, Gary W, 2009. Saunders. On the utility of DNA barcoding for species differentiation among brown macroalgae (Phaeophyceae) including a novel extraction protocol [J]. Phycological Research, 57(2): 131 - 141.
- Daugbjerg N, Hansen G, Larsen J, 2000. Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of naked dinoflagellate [J]. Phycologia, 39: 302 - 317.
- Ehara M, Inagaki Y, Watanabe K I, et al, 2000. Phylogenetic analysis of diatom *cox I* genes and implications of a fluctuating GC content on mitochondrial genetic code evolution [J]. Curr Genet, 37(1): 29 - 33.
- Evans K M, 2007. An assessment of potential diatom "barcode", genes (*cox 1*, *rbcl*, 18 S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in *Sellaphora* (Bacill... [J]. Protist, 158(3): 349 - 364.
- Fucikova K, Rada J C, Lukesova A, et al, 2011. Cryptic diversity within the genus *Pseudomuriella* Hanagata (Chlorophyta, Chlorophyceae, Sphaeropleales) assessed using four Barcode markers [J]. Nova Hedwigia, 93(1/2): 29 - 46.
- Gu H F, Luo Z H, Zhang X D, et al, 2013. Morphology, ultrastructure and phylogeny of *Takayama xiamenensis* sp. nov. (Gymnodiniales, Dinophyceae) from the East China Sea [J]. Phycologia, 52(3): 256 - 265.
- Gugger M, Lyra C, Henriksen P, et al, 2002. Phylogenetic comparison of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52(5): 1867 - 1880.
- Hamsher S E, Evans K M, Mann D G, et al, 2011. Barcoding diatoms: exploring alternatives to COI - 5 P [J]. Protist, 162(3): 405 - 422.
- Hayes P K, Barker G L A, Batley J, et al, 2002. Genetic diversity within populations of cyanobacteria assessed by analysis of single filaments [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 81(1/4): 197 - 202.
- Hind K R, 2013. Molecular markers from three organellar genomes unravel complex taxonomic relationships within the coralline algal genus *Chiharaea* (Corallinales, Rhodophyta). [J]. Molecular Phylogenetics & Evolution, 67(2): 529 - 40.

- Hou C K, Xu M, Pang L C, 2009. Rapid DNA barcoding analysis of large datasets using the composition vector method[J]. *Bmc Bioinformatics*, 10(14): 1 - 9.
- Kaczmarek I, 2007. Diatom taxonomy: morphology, molecules and barcodes[C]. *Central European Diatom Meeting*. :69 - 72.
- Kawashima Y, Akasaki T, Matsumoto Y, et al, 2013. Species identification of imported and Japanese commercial green algal products based on phylogenetic analyses using the nrITS 2 and 5 SrDNA spacer regions[J]. *Fisheries Science*, 79(3): 521 - 529.
- Kooistra W H C F, Sarno D, Balzano S, 2008. Global diversity and biogeography of *Skeletonema* species (bacillariophyta)[J]. *Protist*, 159(2): 177 - 193.
- Kress W J, Wurdack K J, Zimmer E A, et al, 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(23): 8369 - 8374.
- Kucera H, Saunders G W, 2008. Assigning morphological variants of *Fucus* (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognized species using DNA barcoding [J]. *Botany*, 86(9): 1065 - 1079.
- Kucera H, Saunders G W, 2012. A survey of Eangiales (Rhodophyta) based on multiple molecular markers reveals cryptic diversity[J]. *Journal of Phycology*, 48(4): 869 - 882.
- LaJeunesse T C, Parkinson J E, Reimer J D, 2012. A genetics-based description of *Symbiodinium minutum* sp. nov. and *S. psymphilum* sp. nov. (Dinophyceae), two dinoflagellates symbiotic with cnidaria [J]. *Journal of Phycology*, 48(6): 1380 - 1391.
- Lane C E, Lindstrom S C, Saunders G W, 2007. A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Phaeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(2): 634 - 648.
- Lee M A, Faria D G, Han M S, et al, 2013. Evaluation of nuclear ribosomal RNA and chloroplast gene markers for the DNA taxonomy of centric diatoms[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50: 163 - 174.
- Lin S J, Zhang H, Jiao N Z, 2006. Potential utility of mitochondrial cytochrome b and ITS mRNA editing in resolving resolving closely related dinoflagellates: A case study of *Prorocentrum* (DINOPHYCEAE)[J]. *Journal of Phycology*, 42: 646 - 654.
- Lin S J, Zhang H, Hou Y B, et al, 2009. Assessment of mitochondrial *cox1* and *cob* for DNA barcoding in dinoflagellates leads to the detection of high diversity of dinoflagellates in the natural environment[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 75(12): 1279 - 1290.
- Litaker R W, 2007. RECOGNIZING DINOFLAGELLATE SPECIES USING ITS rDNA SEQUENCES[J]. *Journal of Phycology*, 43(2): 344 - 355.
- MacGillivray M L, Kaczmarek I, 2011. Survey of the efficacy of a short fragment of the *rbcL* gene as a supplemental DNA barcode for diatoms [J]. *The Journal of eukaryotic microbiology*, 58(6): 529 - 536.
- Mattio L, Payri C, 2010. Assessment of five markers as potential barcodes for identifying *Sargassum* subgenus *Sargassum* species (Phaeophyceae, Fucales) [J]. *Cryptogamie Algologie*, 31(4): 467 - 485.
- Miranda L N, Zhang H, Zhuang Y, et al, 2012. Phylogenetic analysis guided by intragenomic SSU rDNA polymorphism refines classification of "Alexandrium tamarense" species complex [J]. *Harmful Algae*, 16: 35 - 48.
- Moniz M B, Kaczmarek I, 2009. Barcoding diatoms: Is there a good marker? [J]. *Molecular Ecology Resources*, 9: 65 - 74.
- Moniz M B, Kaczmarek I. Barcoding of diatoms: nuclear encoded ITS revisited[J]. *Protist*, 2010, 161(1): 7 - 34.
- Nelissen B, Wilmotte A, Neefs J M, et al. 1994. Phylogenetic relationships among filamentous helical cyanobacteria investigated on the basis of 16S ribosomal RNA gene sequence analysis[J]. *Systematic & Applied Microbiology*, 17(2): 206 - 210.
- Pochon X, Putnam H M, Burki F, et al, 2012. Identifying and characterizing alternative molecular markers for the symbiotic and free-living dinoflagellate genus *Symbiodinium*[J]. *PLoS ONE*, 7(1): e29816.
- Presting G G, 2006. Identification of conserved regions in the plastid genome: implications for DNA barcoding and biological function[J]. *Canadian Journal of Botany*, 84: 1434 - 1443.
- Raho N, Rodríguez F, Reguera B, et al, 2013. Are the mitochondrial *cox1* and *cob* genes suitable markers for species of *Dinophysis* Ehrenberg? [J]. *Harmful Algae*, 28: 64 - 70.
- Rajaniemi P, Hrouzek P, Kastovská K, et al, 2005. Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria) [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1): 11 - 26.
- Robba L, 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta) [J]. *American Journal of Botany*, 93(8): 1101

- 1108 .

- Romano I, Bellitti M R, Nicolaus B, et al, 2000. Lipid profile: a useful chemo taxonomic marker for classification of a new cyanobacterium in *Spirulina* genus[J]. *Phytochemistry*, 54 (3): 289 - 294.
- Rosa T, 2010. The use of partial *cox1*, *rbcL* and LSU rDNA sequences for phylogenetics and species identification within the *Nitzschia palea* species complex[J]. *European Journal of Phycology*, 45 (4): 413 - 425.
- Saunders G W, 2008. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species diversity. 1. The foliose *Dilsea-Neodilsea* complex and *weeksia* [J]. *Botany*, 86 (7): 773 - 789.
- Saunders G W, Kucera H, 2010. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, UPA, LSU and ITS as DNA barcode markers for the marine green macroalgae *Cryptogamie*[J]. *Algologie*, 31(4): 487 - 528.
- Saunders G W, Kucera H, 2012. A Survey of Bangiales (Rhodophyta) based on multiple molecular markers reveals cryptic diversity[J]. *J Phycol*, 48: 869 - 882.
- Senjie L, 2009. High-level diversity of dinoflagellates in the natural environment, revealed by assessment of mitochondrial *cox1* and *cob* genes for dinoflagellate DNA barcoding [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 75 (5): 1279 - 90.
- Sherwood A R, Kurihara A, Conklin K Y, et al, 2010. The Hawaiian Rhodophyta Biodiversity Survey (2006 - 2010): A summary of principal findings [J]. *BMC Plant Biology*, 258(10): 1471 - 2229.
- Singh P, Singh S S, Elster J, et al, 2013. Molecular phylogeny, population genetics, and evolution of heterocystous cyanobacteria using *nifH* gene sequences[J]. *Protoplasma*, 250(3): 751 - 764.
- Stern R F, Andersen R A, Jameson I, et al, 2012. Evaluating the Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) as a candidate dinoflagellate barcode marker[J]. *PLoS ONE*, 7(8): e42780.
- Stern R F, Horak A, Andrew R L, et al, 2010. Environmental barcoding reveals massive dinoflagellate diversity in marine environments[J]. *PLoS ONE*, 5(11): e13991.
- Suda S, Watanabe M M, Otsuka S, et al, 2002. Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatorioid cyanobacteria[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(5): 1577 - 1595.
- Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, et al, 2007. Power and limitations of the chloroplast *trnL* (UAA) intron for plant DNA barcoding [J]. *Nucleic Acids Research*, 35 (3): 1 - 8.
- Tan J, Lim P E, Phang S M, et al, 2012. Assessment of four molecular markers as potential DNA barcodes for red algae *Kappaphycus* Doty and *Eucheuma* J. Agardh (Soliariaceae, Rhodophyta) [J]. *PLoS ONE*, 7(12): e52905.
- Tan W, Liu Y, Wu Z, et al, 2010. *cpc* BA-IGS as an effective marker to characterize *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek in *Kondrateva* (cyanobacteria) [J]. *Harmful Algae*, 9(6): 607 - 612.
- Teneva I, Dzhabazov B, Mladenov R, et al, 2005. Molecular and phylogenetic characterization of *Phormidium* species (Cyanoprokaryota) using the *cpc* B-IGS-*cpc* A locus[J]. *Phycol*, 41(1): 188 - 194.
- Thornhill D J, Lajeunesse T C, Santos S R, 2007. Measuring rDNA diversity in eukaryotic microbial systems: how intragenomic variation, pseudogenes, and PCR artifacts confound biodiversity estimates [J]. *Molecular ecology*, 16 (24): 5326 - 5340.
- Wang L, Zhuang Y, Zhang H, et al, 2014. DNA barcoding species in *Alexandrium tamarensis* complex using ITS and proposing designation of five species [J]. *Harmful Algae*, 31: 100 - 113.
- Zimmermann J, Jahn R, Gemeinholzer B, 2011. Barcoding diatoms: evaluation of the V4 subregion on the 18S rRNA gene, including new primers and protocols [J]. *Organisms Diversity and Evolution*, 11 (3): 173 - 192.
- Zuccarello G C, Burger G, West J A, et al, 1999. A mitochondrial marker for red algal intraspecific relationships [J]. *Molecular ecology*, 8 (9): 1443 - 1447.

(责任编辑 张俊友 郑金秀)

Research Status and Prospects for DNA Barcode Technology in Algal Taxonomy

MAO Qi-di^{1,2,3}, YANG Su-wen^{1,2}, JIN Wei-dong^{1,2}, YAN Zhen-guang^{1,2},
YAN Yu-hong^{1,2}, JIAO Li-xin^{1,2}, XU Bin^{1,2}, JIAO Ju-long^{1,2}

- (1.State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012,P.R.China;
- 2.National Engineering Laboratory for Lake Pollution Control and Ecological Restoration, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012,P.R.China;
- 3.School of Resources Environmental and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031,P.R.China)

Abstract: Barcodes for the DNA sequences of algal genes have gradually come into use because they provide a quick, effective means for identifying algae in biodiversity studies. In this study, we summarized commonly used barcodes of algae genes and, based on an analysis of DNA barcode technology, identified their advantages and disadvantages. At present, the most commonly barcoded genes include ITS, *cox1*, *rbcL*. Barcodes of DNA sequences in the ITS and phycobiliprotein genes is now the preferred method of identifying prokaryotic cyanobacteria, and barcodes of the ITS and *rbcL* genes have been found suitable for eukaryotic algae. However, it should be noted that finding a suitable gene for DNA barcoding in animals, that can be widely used for species identification, has proven difficult. Therefore, current research on DNA barcoding needs to focus on accelerating the development of new DNA barcode fragments for algae and evaluating their utility. This will provide theoretical support in the search for ideal universal DNA barcodes. Furthermore, traditional morphological identification methods, complemented by gene fragment identification, will improve accuracy when classifying closely related algae species.

Key words: algae; DNA barcodes; species classification; application research