

蜡盘衣属 1 中国新记录种——肉腊盘衣(新拟)

刘玉洁¹, 王立宝², 董娜¹, 郭守玉³, 韩留福^{1*}

(1 河北师范大学 生命科学学院, 石家庄 050024; 2 河北师范大学 旅游学院, 石家庄 050024; 3 中国科学院微生物研究所 真菌学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要:通过对蜡盘衣属(*Biatora*)地衣的形态解剖学及化学研究,结合基因 nrDNA ITS 序列的系统发育分析,报道了采自河北省小五台山的蜡盘衣属地衣 1 中国新记录种——肉腊盘衣(新拟)[*Biatora carnealbida* (Müll. Arg.) Coppins]。该种识别特征为地衣体壳状;子囊盘常簇生,盘面橙黄色;子囊棒状,8 孢;子囊孢子无色,长纺锤形, $(13.3 \sim 20.0) \times (1.7 \sim 5.0) \mu\text{m}$ 。该标本目前馆藏于中国科学院微生物研究所菌物标本馆地衣标本室(HMAS-L)和河北师范大学植物标本室(HBNU)。

关键词:蜡盘衣属;河北;ITS 序列;分类;新记录

中图分类号:Q949.34 **文献标志码:**A

A Newly Recorded Species of the Lichen Genus *Biatora* from China

LIU Yujie¹, WANG Libao², DONG Na¹, GUO Shouyu³, HAN Liufu^{1*}

(1 College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China; 2 Tourism Department, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China; 3 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: *Biatora carnealbida* is reported new to China based on the specimen collected from Hebei Province. The study on morphology, anatomy and chemistry, and a phylogentic analysis of nrDNA ITS sequence were carried out. The new record species can be distinguished by crustose thallus; apothecia usually clustered, disc orange yellow; clavate, 8-spored asci; hyaline, fusiform ascospores $(13.3 - 20.0) \times (1.7 - 5.0) \mu\text{m}$ in size. Specimens are currently collected in HMAS-L and HBNU.

Key words: *Biatora*; Hebei; ITS sequence; taxonomy; new record

蜡盘衣属(*Biatora* Fr.)隶属于树花科(Ramalinaceae),茶渍目(Lecanorales),主要生长于高山、极地或开阔地区的岩石和土壤上。蜡盘衣属建立于 1817 年,但自 19 世纪下半叶以来,该属曾长期被视为网衣属(*Lecidea* Ach.)的亚属,直到 1983 年 Coppins 将其恢复为属^[1]。1995 年,Printzen 首次对欧洲的蜡盘衣属进行了专著性研究,并报道了 17 个种^[2]。2000 年,Printzen 和 Lumbsch 对蜡盘衣属进行了分子系统学研究,基于 ITS 序列将其归为树花科^[3]。2014 年,Printzen 基于 ITS, RPB2 和

mitSSU 3 个基因位点的研究表明,蜡盘衣属至少由形态有所差异的 6 个支系组成^[4]。2016 年,Printzen 等报道了蜡盘衣属的 5 个新种,并且编制了部分蜡盘衣属检索表^[5]。目前,全世界报道的蜡盘衣属约 40 种^[4-5]。该属在中国的研究较少,目前仅报道了 2 种,扁球蜡盘衣 [*Biatora sphaeroides* (Dicks.) Hornem.]及该属的模式种蜡盘衣 [*B. vernalis* (L.) Fr.],均分布于新疆^[6]。在研究蜡盘衣属地衣过程中,根据形态特征和分子系统学分析确定了 1 中国新记录种——肉腊盘衣 [*B. carneal-*

收稿日期:2019-01-29;修改稿收到日期:2019-04-27

基金项目:国家自然科学基金(31750001);河北省自然科学基金(C2016205201)

作者简介:刘玉洁(1994—),女,硕士,在读研究生,主要从事地衣生物学研究。E-mail: 1980726491@qq.com

* 通信作者:韩留福,博士,教授,主要从事地衣生物学研究。E-mail: hanliufu@hebtu.edu.cn

bida (Müll. Arg.) Coppins], 现予以报道。

1 材料与方 法

本研究材料采自中国河北省, 标本保藏于中国科学院微生物所菌物标本馆地衣标本室(HMAS-L)和河北师范大学植物标本室(HBNU)。

1.1 形态观察

在解剖镜(Motic SMZ-140)下对地衣体形态进行观察。对子囊盘进行徒手切片, 制作成临时水装片, 用 0.5% 的甲苯胺蓝染色, 在 Leica DM500 生物显微镜下观察并拍照。利用薄层色谱法(TLC), 使用溶剂系 C 对地衣标本进行次生代谢产物分析^[7]。

1.2 ITS 序列测定及分析

从地衣标本中选取 20 个子囊盘作为实验材料, 使用 DNA 提取试剂盒(DN-14 试剂盒, 北京艾德莱生物科技有限公司)进行 DNA 提取和纯化。

ITS-DNA 的扩增体系为: 参考许晓敏等^[8]方法扩增 ITS1 和 2、5、8S nrDNA, PCR 引物为 ITS1F^[9]和 ITS4^[10]。

PCR 反应用 50 μ L 体系: MIX 25 μ L(含 dNTP, Buffer, Taq 酶), 模版 DNA 2 μ L, 100 μ mol 的 ITS1F 1 μ L, 100 μ mol 的 ITS4 1 μ L, ddH₂O 21 μ L。

PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后进入连续 35 个循环(94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 54 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s), 循环结束后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

PCR 产物送至金唯智公司(苏州)进行测序。

用 Mega 6 软件对所测得的 ITS 序列和从 GenBank 中通过 Blast 检索获得的参考序列进行比对; 并用邻接法(neighbor-joining method, NJ)以 Kimura 二参数模型(K2P)构建系统发育树, 系统树的每个分支的统计学显著性分析以 Bootstrap 方法进行检验, 重复次数为 1 000 次^[11]。

2 结果与分析

2.1 ITS 序列比对和系统发育分析

本研究标本的 ITS 序列与从 GenBank 中肉腊盘衣的序列比对结果一致性为 99%。该标本 ITS 序列与 GenBank 中下载的 23 条蜡盘衣属地衣序列构建系统发育树(图 1)。结果表明, 该标本 ITS 序列与 GenBank 中 4 个来自芬兰的 *Biatora carnealbida* 标本的 ITS 序列聚为一支, 其支持值为 100%。

2.2 肉腊盘衣 *Biatora carnealbida* (Müll. Arg.) Coppins, *Lichenologist* 24(4): 367 (1992)

地衣体壳状, 较厚; 表面灰绿色, 粗颗粒状或瘤状。子囊盘直径 0.4~1.4 mm, 单一或 3~5 个簇生; 盘面黄色至淡橙黄色, 初期平坦, 后期凸起成球形, 无粉霜(图 2, A); 盘缘初期可见, 与子囊盘同色。

果壳宽 55~95 μ m, 上部无色至淡黄色, 下部颜色变淡; 子实层无色, 厚度为 50~85 μ m; 侧丝顶端稍膨大; 囊层基无色或至淡黄色; 子囊棒状, 8 孢; 子

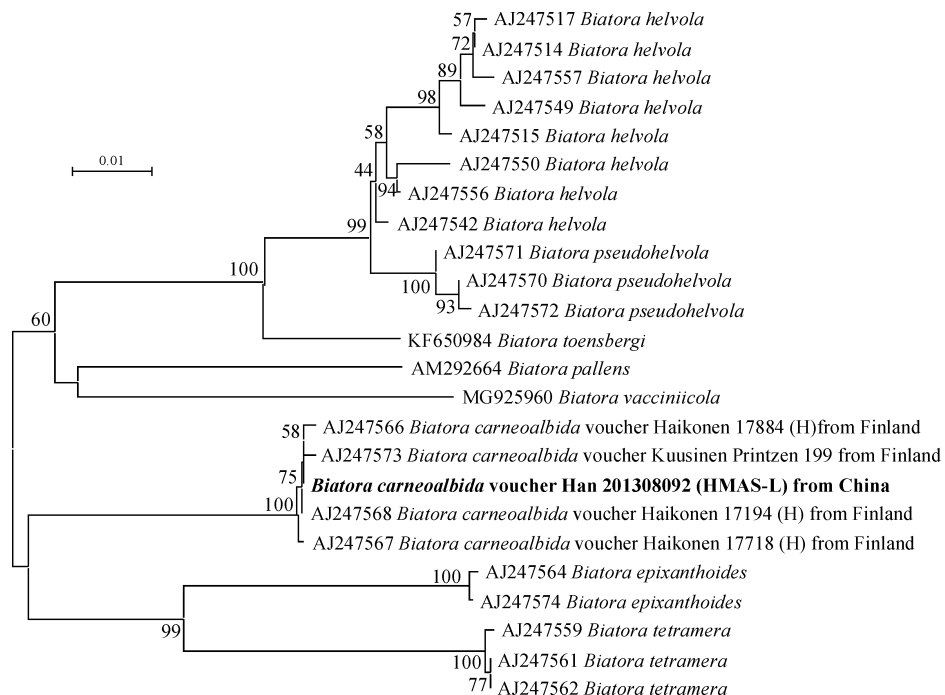
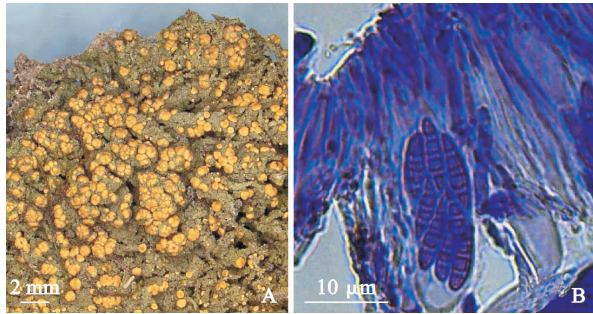


图 1 肉腊盘衣及来自 GenBank 的相似物种的 ITS 序列构建的 NJ 系统发育树

Fig. 1 NJ phylogenetic tree of ITS sequences for *Biatora carnealbida* and the similar species retrieved from GenBank

囊孢子无色, 3 隔, 纺锤形, 平直, 大小为 $(13.3 \sim 20.0) \times (1.7 \sim 5.0) \mu\text{m}$ (图 2, B)。

化学反应: 皮层和髓层 K-, C-, KC-, P-。



A. 地衣体和子囊盘; B. 子囊和子囊孢子

图 2 肉蜡盘衣

A. Thallus and apothecia; B. Ascus and ascospores

Fig. 2 *Biatora carnealbida*

化学成分: 未检测到次生代谢物(TLC)。

世界分布: 北美和欧洲, 亚洲^[5]; 中国(河北)。

光合共生物: 绿藻, 与文献描述一致^[1]。

研究标本: 河北省涿鹿县小五台山山洞口, 海拔 2 100 m, 生于腐朽苔藓植物上, 2013. 8. 12, 韩留福 201308092-1 (HMAS-L), 201308092-2 (HBNU)。

2.3 讨论

该种与 *Biatora helvola* Körb. ex Hellb. 较为相似, 但后者生于树皮或朽木上; 子囊孢子无隔或 1 隔, 孢子较小, $(10.2 \sim 14.2) \times (3.4 \sim 4.5) \mu\text{m}$; 地衣体含有 gyrophoric acid^[5]。该种与 *B. epixanthoides* (Nyl.) Diederich 亲缘关系较近, 但后者地衣体表面生有粉芽, 后期粉芽常汇合, 呈皮屑状^[12], 易于和本种区分。中国产该属地衣共 3 种, 为了便于识别, 本文编制了中国已报道种检索表^[6]。

中国蜡盘属地衣检索表

1. 子囊盘红色或淡微红色, 或带红色色彩; 孢子无隔, $(11.0 \sim 23.0) \times (4.0 \sim 7.0) \mu\text{m}$ 春蜡盘衣 *B. vernalis*
1. 子囊盘淡黄色至橙黄色; 孢子常具 3 隔 2
2. 子囊盘常单生, 盘面淡黄色, 缘部淡色; 孢子较宽, 长圆纺锤形, $(15.0 \sim 21.0) \times (5.0 \sim 7.0) \mu\text{m}$ 扁球蜡盘衣 *B. sphaeroides*
2. 子囊盘常 3~5 个簇生, 盘面黄色至橙黄色; 孢子较窄, 纺锤形, $(13.3 \sim 20.0) \times (1.7 \sim 5.0) \mu\text{m}$ 肉蜡盘衣 *B. carnealbida*

参考文献:

- [1] FLAKUS P R, PRINTZEN C. Molecular evidence for the occurrence of the lichen genus *Biatora* (Lecanorales, Ascomycota) in the Southern Hemisphere [J]. *Phytotaxa*, 2014, **172** (3): 271-279.
- [2] PRINTZEN C. Die Flechtengattung *Biatora* in Europa [J]. *Bibliotheca Lichenologica*, 1995, 60: 1-275.
- [3] PRINTZEN C, LUMBSCH H T. Molecular evidence for the diversification of extant Lichens in the Late Cretaceous and Tertiary [J]. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 2000, **17**(3): 379-387.
- [4] PRINTZEN C. A molecular phylogeny of the lichen genus *Biatora* including some morphologically similar species [J]. *Lichenologist*, 2014, **46**(3): 441-453.
- [5] PRINTZEN C, HALDA J P, MCCARTHY J W, et al. Five new species of *Biatora* from four continents [J]. *Herzogia*, 2016, **29**(2): 566-585.
- [6] 阿布都拉·阿巴斯, 吴继农. 新疆地衣[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1998.
- [7] ORANGE A, JAMES P W, WHITH F J. Microchemical Methods for the Identification of Lichens [M]. 2nd Edition. London: British Lichen Society, 2010.
- [8] 许晓敏, 王晓华, 何家欢, 等. 地卷属 1 中国新记录种——西方地卷(新拟)[J]. 西北植物学报, 2018, **38**(11): 2 151-2 154. XU X M, WANG X H, HE J H, et al. A Newly recorded species of the lichen genus *Peltigera* from China [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, **38**(11): 2 151-2 154.
- [9] GARDES M, BRUNS T D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts [J]. *Molecular Ecology*, 1993, **2**(2): 113-118.
- [10] WHITE T J, BRUNS T D, LEE S B, et al. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics[M]// IN: NIS M A, SNINSKY D H, WHITE T J. PCR Protocols-a Guide to Methods and Applications San Diego: Academic Press, 1990: 315-322.
- [11] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30: 2 725-2 729.
- [12] MOTIEJ ŪNAIT Ė J, BERGLUND T, et al. Lichens, lichenicolous and allied fungi found in Asveja Regional Park (Lithuania) [J]. *Botanica Lithuanica*, 2012, **18** (2): 85-100.