

地卷属 1 中国新记录种——西方地卷(新拟)

许晓敏¹, 王晓华², 何家欢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 河北工程大学 医学院, 河北邯郸 056002; 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:通过对采自黑龙江省呼中自然保护区地卷属地衣的形态解剖学和化学研究, 结合基因 nrDNA ITS 序列的系统发育分析, 报道了地卷属地衣 1 中国新记录种——西方地卷(新拟)[*Peltigera occidentalis* (Å. E. Dahl) Kristinsson]。该种的识别特征为上表面平滑, 中部稍具光泽, 无绒毛、裂芽和小裂片; 下表面边缘淡棕色, 中部棕黑色, 脉纹扁平且明显, 假根单一至束状。该文对基于中国标本的西方地卷进行了详细描述, 并与形态相似的 3 个种——小瘤地卷、多指地卷和犬地卷分别进行了比较, 提供了西方地卷形态相似种的检索表。

关键词:西方地卷; 茶渍纲; 黑龙江; ITS 序列; 分类

中图分类号: Q949.34

文献标志码: A

A Newly Recorded Species of the Lichen Genus *Peltigera* from China, *Peltigera occidentalis* (Å. E. Dahl) Kristinsson

XU Xiaomin¹, WANG Xiaohua², HE Jiahuan¹, GUO Shouyu³, HAN Liufu^{1*}

(1 College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China; 2 Medical College, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056002, China; 3 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: *Peltigera occidentalis* (Å. E. Dahl) Kristinsson is reported new to China based on the specimen collected from Heilongjiang Province. The morphology, anatomy and chemistry analysis, and a phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequence were carried out. The new record species can be distinguished by the smooth and shiny upper surface, no tomentum, phyllidia and isidia; the marginal pale brown and central dark brown lower surface, flat and distinct veins, simple to fasciculate rhizines. Detailed description of *P. occidentalis* basing on the Chinese specimen and discussion with allied species, i. e. *P. scabrosa*, *P. ploydactylon* and *P. canina* and a key to them were provided.

Key words: *Peltigera occidentalis*; Lecanoromycetes; Heilongjiang; ITS sequence; taxonomy

地卷属(*Peltigera*)是地衣型真菌中最早描述的属之一^[1], 但与其他大型叶状地衣相比, 其物种多样性尚需要进一步研究。地卷属为土生和伴苔藓生的叶状地衣, 它们普遍存在于潮湿生境中^[2-4]。该属识别特征是下表面无皮层, 常生有绒毛, 脉纹明显或

不明显, 淡白至棕黑色, 其上生有假根^[4-6]。

经典的地卷属分类学主要依据地衣体形态特征进行物种划分, 偶尔也根据地衣次生代谢物质进行分类^[7]。地卷属是最早利用分子系统学进行评估和界定种间分类界限的地衣类群之一^[8]。nrDNA 的

收稿日期: 2018-07-26; 修改稿收到日期: 2018-09-29

基金项目: 科技部基础性工作专项(2014FY210400); 河北省自然科学基金项目(C2016205201)

作者简介: 许晓敏(1992-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事地衣内生真菌资源与分类学研究。E-mail: 958792332@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

ITS序列和LSU序列已经广泛应用于地卷属的分子系统发育分析中^[9]。Miadlikowska和Lutzoni结合地卷属地衣形态学、化学特征和LSU nrDNA序列分子系统学分析,对该属进行了亚属划分^[7]。O'Brien等基于3个基因位点(nrDNA的ITS,β-微管蛋白和RPB1)的序列数据,对地卷属进行生殖隔离的系统学研究表明:该属地衣种类在北美西部的分布比原先认为的更加多样化,呈现的形态多样性为可能存在多个未被描述的物种而不是杂交或种内变异^[6]。

最近,相关研究报道了产自东半球(巴布亚新几内亚和中国)的8个新种^[2-3,9]。目前,全世界报道地卷属地衣约90种,主要分布于北半球^[3];亚洲报道了约40种地卷属地衣^[2-3,10-11],中国报道了30种^[2-3,11-14]。在研究地卷属地衣过程中,根据形态特征和分子系统学分析确定1中国新记录种:西方地卷 [*Peltigera occidentalis* (Å. E. Dahl) Kristinsson]。此前报道该种仅产于欧洲和北美^[15-17],本文为亚洲首次报道。

1 材料和方法

1.1 研究材料

本研究所用标本采自中国黑龙江,现存于中国科学学院微生物所地衣标本室(HMAS-L)。

1.2 形态学观察

解剖镜(Motic SMZ-140)进行形态学观察;对子囊盘进行徒手切片,制作临时水装片,Leica DM500生物显微镜观察。利用薄层色谱法(TLC),使用溶剂系统C对地衣标本进行次生代谢产物分析^[18]。

1.3 nrDNA-ITS序列测定及分析

DNA提取:选取地衣体裂片,使用CTAB植物基因组DNA快速提取试剂盒(DN-14,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Han等方法^[3]扩增ITS1、2和5.8S nrDNA,PCR引物为ITS1F^[19]和ITS4^[20]。

PCR反应用50 μL体系:MIX 25 μL(含dNDP, Buffer, Taq酶),模版DNA 2 μL,引物ITS1F 1 μL,ITS4 1 μL,ddH₂O 21 μL。

PCR反应程序:95℃预变性5 min,然后进入连续35个循环,94℃变性40 s;54℃退火40 s,72℃延伸40 s,循环结束后72℃延伸10 min。

PCR产物送至金唯智公司进行测序。

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^[21]。

2 结果与分析

2.1 ITS序列比对和系统发育分析

研究标本ITS序列与已经提交的地卷序列比对结果一致性均为99%,系统发育树(图1)显示:该研究标本ITS序列与GenBank中*Peltigera occidentalis*的ITS序列聚为一支,Bootstrap值为100%;并以75%的Bootstrap值与*P. scabrosella*形成姐妹群。

2.2 西方地卷 [*Peltigera occidentalis* (Å. E. Dahl) Kristinsson, 图2]

地衣叶状体中型,直径达10 cm左右,周缘裂片宽1~2 cm,边缘上翘或上卷。上表面灰色至灰褐色,常具褐色色彩,平滑,中部稍有光泽,无绒毛、粉霜、裂芽和小裂片。下表面边缘淡白色至淡褐色,中心区域为深褐色至黑褐色;脉纹扁平、清晰、网状;假根褐色至黑褐色,单一或束状。

光合共生物:蓝细菌。

子囊盘:子囊盘圆形,直径约2 mm,生于短裂片顶端;平卧型或直立型,有时两侧边缘下卷呈马鞍状;盘面褐色。子囊8孢,孢子透明,50.0~73.0×2.5~5.0 μm。

化学:Tenuiorin, thiophanic acid,以及1未知萜类(TLC)。

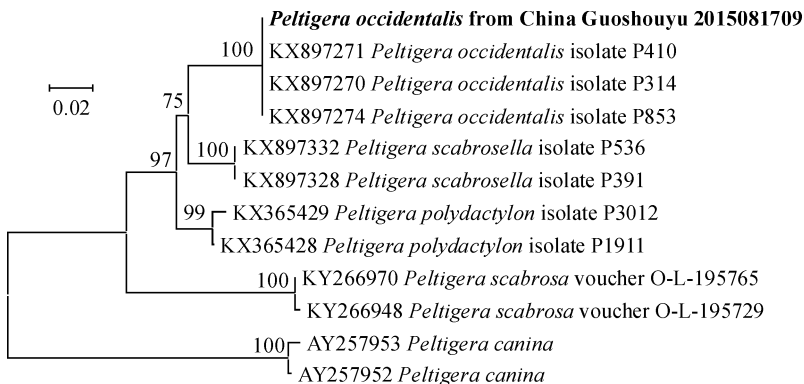
分布:俄罗斯^[15],美国^[15],加拿大和挪威^[15],冰岛和格陵兰^[16],北欧的拉普兰德^[17],中国(黑龙江省)。

研究标本:黑龙江省呼中自然保护区,海拔745 m,2015.8.17,郭守玉2015081709(HMAS-L)。

讨论:西方地卷与小瘤地卷(*Peltigera scabrosa* Th. Fr.)在形态上最为相似,其区别在于后者上表面粗糙,具明显小疣状突起;下表面假根束状至多分枝,中部多少交织成垫状;子囊盘直立型,马鞍状。该种也与多指地卷 [*P. ploydactylon* (Neck.) Hoffm.]容易混淆,其区别是后者上表面明显具有光泽,边缘或裂缝处常具有大量小裂片;下表面假根束状;子囊盘马鞍形翘起。该种与犬地卷 [*P. canina* (L.) Willd.]也较为相似,区别是后者裂片顶端下卷;上表面绒毛明显;下表面脉纹狭细而隆起,假

根上常生有绒毛。上述 3 个相近种在中国均有报道^[14]。该种与 *P. scabrosella* Holt. -Hartw. 也很容易混淆,区别是后着上表面粗糙;下表面假根白色至淡褐色,脉纹不清晰,二者容易区别。*P. sca-*

brosella 分布于挪威、芬兰、丹麦的格陵兰岛等地区^[22];目前在中国尚未见报道。为便于识别西方地卷,本文提供西方地卷与中国产 3 个形态相似种的检索表。

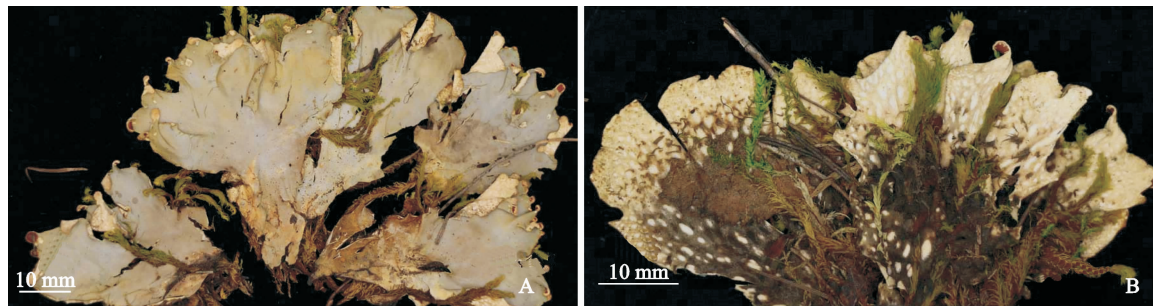


分支上标注的数字为自展支持值

图 1 西方地卷及来自 GenBank 的相似物种的 ITS 序列用邻接法构建的系统发育树

The bootstrap values (1 000 replicates) are shown above the branches

Fig. 1 NJ phylogenetic tree of ITS sequences among *Peltigera occidentalis* and the similar species retrieved from GenBank



A. 地衣体和子囊盘;B. 地衣体下表面示脉纹和假根

图 2 西方地卷

A. Thallus and apothecia;B. The lower surface showing veins and rhizines

Fig. 2 *Peltigera occidentalis*

西方地卷形态相似种的检索表

A key to some morphologically similar species of *Peltigera occidentalis*

1. 地衣体上表面粗糙,具明显小疣状突起;下表面假根中部多少交织成垫状…………… 小瘤地卷 *P. scabrosa*
1. 地衣体上表面光滑,无疣状突起…………… 2
2. 上表面明显无绒毛,具有光泽,边缘或裂缝处常有小裂片;下表面假根束状…………… 多指地卷 *P. polydactylon*
2. 上表面明显具有绒毛,通常无光泽,边缘或裂缝处无小裂片…………… 3
3. 下表面中心区域淡白色或淡褐色;脉纹狭细而隆起;假根淡色,其上常生有绒毛…………… 犬地卷 *P. canina*
3. 下表面中心区域为深褐色至黑褐色;脉纹扁平;假根褐色至黑褐色,其上无绒毛…………… 西方地卷 *P. occidentalis*

参考文献:

- [1] WILLDENOW C L. *Flora Berolinensis Prodrum* [M]. Berlin: Wilhelm Vieweg, 1787: 347.
- [2] HAN L F, ZHANG Y Y, GUO S Y. *Peltigera wulingensis*, a new lichen (Ascomycota) from north China [J]. *Lichenologist*, 2013, **45**(3): 329-336.
- [3] HAN L F, ZHENG T X, GUO S Y. A new species in the lichen genus *Peltigera* from northern China based on morphology and DNA sequence data [J]. *Bryologist*, 2015, **118**(1): 46-53.
- [4] MANOHARAN-BASIL S S, MIADLIKOWSKA J, GOWARD T, *et al.* *Peltigera islandica*, a new cyanolichen species in section *Peltigera* ('*P. canina* group') [J]. *Lichenologist*, 2016, **48**(5): 451-467.
- [5] GOFFINET B, MIADLIKOWSKA J, GOWARD T. Phylogenetic inferences based on nrDNA sequences support five morphospecies within the *Peltigera didactyla* complex (lichenized Ascomycota) [J]. *Bryologist*, 2003, **106**(3): 349-364.
- [6] O'BRIEN H E, MIADLIKOWSKA J, LUTZONI F. Assessing reproductive isolation in highly diverse communities of the lichen-forming fungal genus *Peltigera* [J]. *Evolution*, 2009, **63**(8): 2 076-2 086.
- [7] MIADLIKOWSKA J, LUTZONI F. Phylogenetic revision of the genus *Peltigera* (lichen-forming Ascomycota) based on morphological, chemical, and large subunit nuclear ribosomal DNA data [J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2000, **161**(6): 925-958.
- [8] GOFFINET B, MIADLIKOWSKA J. *Peltigera phyllidiosa* (Peltigeraceae, Ascomycotina), a new species from the Southern Appalachians corroborated by ITS sequences [J]. *Lichenologist*, 1999, **31**(3): 247-256.
- [9] SÉRUSIAUX E, GOFFINET B, MIADLIKOWSKA J, *et al.* Taxonomy, phylogeny and biogeography of the lichen genus *Peltigera* in Papua Newuinea [J]. *Fungal Diversity*, 2009, **38**(10): 185-224.
- [10] MARTÍNEZ I, BUGGAZO A R, VITIKAINEN O, *et al.* Distribution patterns in the genus *Peltigera* Willd [J]. *Lichenologist*, 2003, **35**(4): 301-323.
- [11] 牛东玲, 朱 强, 王忠忠, 等. 地卷属 1 中国新记录种 [J]. *西北植物学报*, 2016, **36**(6): 1 245-1 249.
- NIU D L, ZHU Q, WANG Z Z, *et al.* New record of the lichen genus *Peltigera* from China [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(6): 1 245-1 249.
- [12] WEI J C. An Enumeration of Lichens in China [M]. Beijing: International Academic Publishers, 1991: 181-187.
- [13] STENROOS S, VITIKAINEN O, KOPONEN T. Cladoniaceae, Peltigeraceae and other lichens from northwestern Sichuan, China [J]. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, 1994, **75**: 319-344.
- [14] 吴继农, 刘华杰. 中国地衣志. 第十一卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2012: 125-165.
- [15] MAGAIN N, MIADLIKOWSKA J, GOFFINET B, *et al.* Macroevolution of specificity in cyanolichens of the genus *Peltigera* section *Polydactylon* (Lecanoromycetes, Ascomycota) [J]. *Systematic Biology*, 2017, **66**(1): 74-99.
- [16] KRISTINSSON H. *Peltigera occidentalis* in Iceland [J]. *Bryologist*, 1968, **71**(1): 38-40.
- [17] KAASALAINEN U, FEWER D P, JOKELA J, *et al.* Lichen species identity and diversity of cyanobacterial toxins in symbiosis [J]. *New Phytologist*, 2013, **198**(3): 647-651.
- [18] ORANGE A, JAMES P W, WHITH F J. *Microchemical Methods for the Identification of Lichens* [M]. 2nd edition. London: British Lichen Society, 2010: 51-65.
- [19] 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.
- [20] WHITE T J, BRUNS T D, LEE S B, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]// INNIS M A, SNINSKY D H, WHITE T J. *PCR Protocols- a Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322.
- [21] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, *et al.* MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(12): 2 725-2 729.
- [22] HOLTANHARTWIG J. Two new species of *Peltigera* [J]. *Lichenologist*, 1988, **20**(1): 11-17.

(编辑:潘新社)