



石蕊属地衣 2 中国新记录种

陈雨欣¹, 魏双奇¹, 郭光艳¹, 郭守玉², 韩留福^{1*}

(1 河北师范大学 生命科学学院, 石家庄 050024; 2 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: 石蕊属地衣初生地衣体鳞片状、次生果柄圆柱形, 世界上报道了 500 多种, 是地衣多样性的重要组成部分, 并具有重要的生态功能。在深入研究中国石蕊属地衣过程中, 基于形态学特征、化学特征和 nrDNA ITS 序列的系统发育分析, 从采集于河北省和云南省的地衣标本中发现了石蕊属地衣 2 个中国新记录种——喀麦隆石蕊 (*Cladonia camerunensis*) 和覆瓦石蕊 (*C. imbricata*)。该文提供了 2 种石蕊属地衣特征的详细描述和图片并与相近种类进行比较。

关键词: 石蕊科; ITS 序列; 分类; 河北省; 云南省

中图分类号: Q949.34 **文献标志码:** A

Two Newly Recorded Species of the Lichen Genus *Cladonia* from China

CHEN Yuxin¹, WEI Shuangqi¹, GUO Guangyan¹, GUO Shouyu², HAN Liufu^{1*}

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

Abstract: Lichens of the genus *Cladonia* consist of primary squamules and secondary cylindric podetia. More than 500 species have been reported in the world, which are the important components of lichen diversity and have significant ecological functions. With the in-depth investigation of *Cladonia* species in China, we identified *C. camerunensis* and *C. imbricata* as new to China based on morphological characteristics, chemistry and phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequence data from Yunnan and Hebei, respectively. Detailed characteristics and pictures of two *Cladonia* species are presented with comparison with some similar species.

Key words: Cladoniaceae; ITS sequence; taxonomy; Hebei; Yunnan

石蕊属 (*Cladonia* P. Browne) 地衣属于真菌界 (Fungi) 子囊菌门 (Ascomycota) 茶渍纲 (Lecanoromycetes) 茶渍目 (Lecanorales) 石蕊科 (Cladoniaceae), 主要着生于土壤、岩石、腐木及树基, 全球广泛分布, 已描述并为多数学者承认的种类超过 500 种^[1-4]。初生地衣体鳞片状至壳状, 宿存或早期消失; 次生地衣体又称果柄, 管状至枝状, 直立而中空, 由初生地衣体上表面或近边缘处生出, 顶端尖细, 或

钝圆, 或具杯体; 子囊盘生于果柄顶端, 网衣型。最早研究中国石蕊属地衣的学者 Krempelhuber 报道了采自中国的千层石蕊 [*C. verticillata* (Raddi) Fr.] 和腐石蕊 [*C. cariosa* (Ach.) Spreng]^[5]。中国最早研究石蕊属地衣的学者朱彦丞记载了中国产石蕊属地衣 4 种。此后, 多位学者对采自中国的石蕊属地衣进行了报道, 截至目前, 中国产石蕊属地衣共计 110 种^[5]。在深入研究中国石蕊属地衣过程

收稿日期: 2022-06-26; 修改稿收到日期: 2023-02-14

基金项目: 国家自然科学基金 (32070013); 河北省自然科学基金 (C2021205003); 河北省高等学校科学技术研究项目 (ZD2019014)

作者简介: 陈雨欣 (1998—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为地衣生物学。

* 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

中,根据形态特征、次生代谢物种类和分子系统学分析确定 2 个中国新记录种:喀麦隆石蕊(新拟, *C. camerunensis* Ahti & Flakus) 和覆瓦石蕊(新拟, *C. imbricata* S. Hammer)。此前报道显示该 2 种分别产于非洲、大洋洲^[6-7],本研究为这两种地衣分布于亚洲的首次报道。

1 研究材料

本研究所用喀麦隆石蕊标本采自云南西畴县法斗乡水晶石梁子(23°22'N,104°47'E)阔叶林地带树上,覆瓦石蕊地衣标本采自河北省平山县骆驼梁山区(38°73'N,113°80'E)路边裸露的岩石上。地衣标本现存于中国科学院微生物所菌物标本馆地衣部(HMAS-L)和河北师范大学标本室(HBNU)。

2 研究方法

2.1 形态学观察

利用解剖镜(Motic SMZ-140)进行形态学观察,对石蕊属地衣体鳞片及果柄进行徒手切片,制作临时水装片,LeicaDM500 生物显微镜观察。

2.2 薄层色谱法(Thin-layer chromatography, TLC)

利用薄层色谱法,使用溶剂系统 C 测定引证标本的地衣次生代谢产物^[8]。

2.3 nrDNA-ITS 序列测定及分析

DNA 提取:选取石蕊属地衣上幼嫩果柄和鳞片,使用 DNA 提取试剂盒(DN-14 试剂盒)进行 DNA 提取和纯化。nrDNA-ITS 的扩增体系参考文献[9-12]的方法扩增完整的 nrDNA ITS 区(ITS1 + 5.8S + ITS2),PCR 引物为 ITS5 和 ITS4^[13]。PCR 反应用 50 μL 体系:Mix 25 μL (含 dNDP, Buffer, Taq 酶)模板 DNA 2 μL,引物 ITS5 1 μL, ITS4 1 μL,ddH₂O 21 μL。PCR 反应程序:95 °C 预变性 5 min;然后连续 35 个循环,94 °C 变性 40 s,54 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 40 s;循环结束后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经检测合格后,送至金唯智公司(苏州)进行测序^[9]。

用 MegaX 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,并利用最大似然法(maximum likelihood method)和 GTR+G+I 模型(general time reversible model)构建系统发育树,系统树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^[14]。

3 结果与分析

3.1 ITS 序列比对和系统发育分析

喀麦隆石蕊和覆瓦石蕊地衣标本 ITS 序列与已经提交的喀麦隆石蕊和覆瓦石蕊序列比对结果一致性分别为 99.31% 和 99.30%。系统发育树(图 1)显示:2 种研究标本 ITS 序列(标记“○”)与 GenBank 中喀麦隆石蕊和覆瓦石蕊的 ITS 序列各聚为一支,自展支持值均为 99%。

3.2 分类

3.2.1 喀麦隆石蕊(新拟,图 2, A、B) *Cladonia camerunensis* Ahti & Flakus, in Ahti, Pino-Bodas, Flakus & Stenroos, Lichenologist 48(6): 518 (2016)

初生地衣体鳞片状、连续、宿存,鳞片圆形、二叉裂和放射状分裂,1.2~3.0×1.0~1.7 mm,部分略微卷曲,无粉芽;上表面灰绿色至黄绿色,稍具白霜,光滑、有光泽;下表面白色,略呈絮状和脉状(图 2, A)。切片观察显示:鳞片厚 105~250 μm,皮层 20~70 μm,髓层 85~160 μm。

果柄常见,高 7.0~18.0 mm,中空,软骨质,粗达 0.8(~1.0) mm,白色至灰白色;棍棒状或钻状,不分枝或具稀疏分枝,圆柱形至稍扁形;基部具皮层,上部发育不良或部分缺乏,具粗颗粒和微鳞片状颗粒;具有丰富的细颗粒状粉芽(图 2, A 和 B)。子囊盘顶生,幼小,小于 1 mm,红色(图 2, B);子囊孢子和分生孢子未观察到。

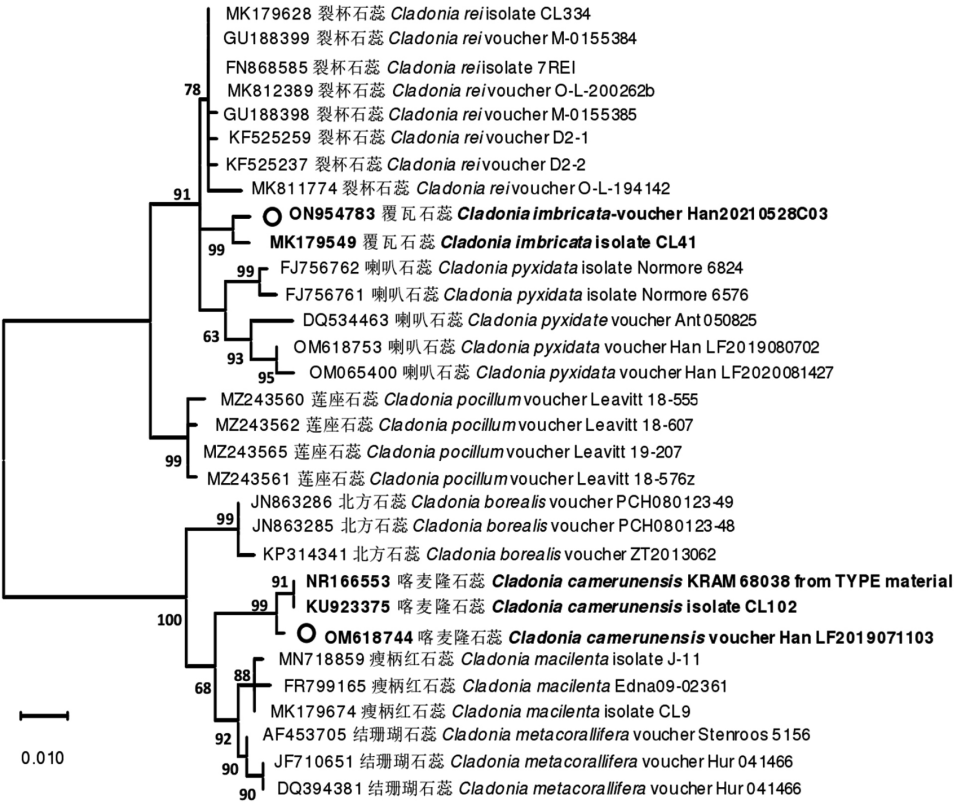
化学:K-,C-,KC-,P-,UV-。含巴巴酸(barbat-ic acid)、小红石蕊酸(didymic acid)及泽渥萆(ze-orin)。

生境:树生。

分布:非洲(喀麦隆)^[6],中国(云南省)。中国新记录种。

产地:云南西畴县法斗乡, 23°22'N, 104°47'E, 1 500 m, 标本采集时间:2019.7.11, 标本采集人:韩留福, 标本号:2019071102, 2019071103 (GenBank OM618744)。

讨论:中国标本与模式标本的形态及化学性状基本一致^[6],细微差异在于我们的标本为树生,果柄细,直径小于 1 mm,其上多具粗颗粒和细颗粒状粉芽,子囊盘幼小,直径小于 1 mm,地衣体含有泽渥萆;而非洲标本为石上植物碎屑生,果柄直径 1~2 mm,其上小鳞片明显^[6],子囊盘直径 1.0~1.5 mm,地衣体不含泽渥萆。该种在形态上与小红石蕊



分支节点标注的数字为自展支持值($\geq 50\%$, 1 000 次重复)。本研究获得的序列用“○”标记

图 1 喀麦隆石蕊和覆瓦石蕊及 GenBank 中相似物种的 ITS 序列构建的 ML 系统发育树

The bootstrap values ($\geq 50\%$, 1 000 replicates) are shown at the nodes. The sequences data obtained in this study are marked with ○

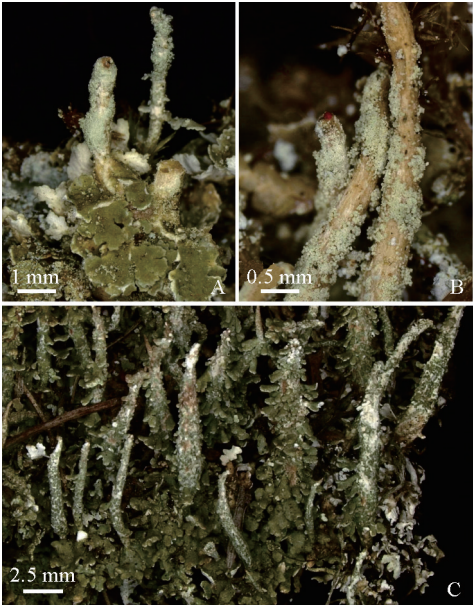
Fig. 1 ML phylogenetic tree of ITS sequences for *Cladonia camerunensis*, *C. imbricata* and some similar species retrieved from GenBank

[*Cladonia didyma* (Fée) Vain.] 和瘦柄红石蕊 [*C. macilenta* Hoffm.] 相近^[6],但小红石蕊的果柄常无皮层、髓层明显外露,偶有小鳞片和细颗粒;而瘦柄红石蕊的果柄中部以下具皮层和微小鳞芽,上部密布粉末状粉芽^[6]。

3.2.2 覆瓦石蕊(新拟,图 2,C) *Cladonia imbricata* S. Hammer, Bryologist 104(4): 571 (2001)

初生地衣体鳞片状、宿存;鳞片 1.0~4.0×1.0~2.0 mm,锐裂,边缘上翘,全缘甚至深裂;上表面黄灰色至绿灰色,幼时具有光泽;下表面白色,老时暗白色。切片观察显示:鳞片厚 155~255 μm ,皮层 15~40 μm ,下皮层 90~135 μm 。裂片边缘偶具珊瑚状裂芽,无粉芽。

果柄常见,高 0.5~2.0 cm,中空,软骨质,细,直立,钻形或钝形,稀窄杯状(无杯),不分枝或稀分枝;果柄基部具皮层或黑色素;果柄表面常无皮层,覆盖许多具皮层的颗粒状至鳞片,鳞片锐裂至圆状,长达 3 mm,覆瓦状,尤其近顶部明显,无粉芽(图 2,C)。



A、B. 喀麦隆石蕊(韩留福 2019071103); C. 覆瓦石蕊(韩留福, 张焕兵 20210528C03)

图 2 喀麦隆石蕊和覆瓦石蕊

A, B. *Cladonia camerunensis* (Han 2019071103);
C. *Cladonia imbricata* (Han & Zhang 20210528C03)

Fig. 2 *Cladonia camerunensis* and *C. imbricata*

子囊盘未见。

化学:K-,KC-,C-,P+ 红色;含富马原岛衣酸 (fumarprotocetraric acid)、类石花酸 (homosekeka-ic acid)。

生境:石上薄土生。

分布:大洋洲(澳大利亚、新西兰)^[7],中国(河北省)。中国新记录种。

研究标本:河北省平山县驼梁山,38°73'N,113°80'E,1 689 m,2021. 5. 28,韩留福、张焕兵 20210528C03 (GenBank: ON954783),20210528C02,20210528C01。

讨论:该种次生地衣体即果柄的表面覆盖有密

集呈覆瓦状排列的鳞片,因此称为覆瓦石蕊。中国标本与模式标本的形态及化学性状基本一致,细微差异在于我们的标本果柄较矮,高低于 2. 0 cm,子囊盘未见;而澳大利亚及新西兰的标本果柄较高,高达 3. 5 cm,具褐色子囊盘^[7]。该种与拟枪石蕊 [*Cladonia subradiata* (Vain.) Sandst.] 和裂杯石蕊 (*Cladonia rei* Schaer.) 非常相似^[7],拟枪石蕊果柄几乎无皮层,密布白色颗粒状粉芽,无粉芽区较透明,夹杂小鳞芽;而裂杯石蕊无皮层,密布粉末状粉芽至颗粒状粉芽,基部具疣状皮层,有时具小鳞芽^[7]。

撰写论文贡献说明:陈雨欣:对标本进行观察、照相和描述,次生代谢物测定,ITS 测序和比对;魏双奇:标本整理和 ITS 测序;郭光艳:图片处理和 ITS 序列分析;郭守玉:地衣标本鉴定,ITS 系统发育树分析,论文修改;韩留福:标本采集和鉴定,论文撰写。

参考文献:

[1] 郭守玉. 中国石蕊属地衣的地理学分析[J]. 菌物系统, 2000, 19(2): 193-199.
GUO S Y. Analysis of geography of the lichen genus *cladonia* from China[J]. *Mycosystema*, 2000, 19(2): 193-199.

[2] 秦正男, 韩留福, 郭守玉. 中国石蕊属地衣新记录种及其与近缘谱系的分化[J]. 菌物研究, 2015, 13(2): 68-72.
QIN Z N, HAN L F, GUO S Y. A species of *Cladonia* new to China and its divergence with closely related lineage[J]. *Journal of Fungal Research*, 2015, 13(2): 68-72.

[3] 李 博, 石 瑛, 谢树莲. 云南凤凰山石蕊科地衣研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2018, 41(2): 458-462.
LI B, SHI Y, XIE S L. Lichen family Cladoniaceae from Fenghuang Mountains, Yunnan[J]. *Journal of Shanxi University* (Natural Science Edition), 2018, 41(2): 458-462.

[4] LÜCKING R, HODKINSON B P, LEAVITT S D. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota - Approaching one thousand genera[J]. *The Bryologist*, 2017, 119(4): 361.

[5] WEI J C. The Enumeration of Lichenized Fungi in China [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2020.

[6] AHTI T, PINO-BODAS R, FLAKUS A, *et al.* Additions to the global diversity of *Cladonia*[J]. *The Lichenologist*, 2016, 48(5): 517-526.

[7] HAMMER S. Additions to the lichen family Cladoniaceae in Australia[J]. *The Bryologist*, 2001, 104(4): 560-575.

[8] ORANGE A, JAMES P W, WHITE F J. Microchemical Methods for the Identification of Lichens[M]. Second edition with additions and corrections. London: British Lichen Society, 2010.

[9] ZHANG H B, LIU Y J, GUO S Y, *et al.* Two new lichen species of the genus *Ramalina* (Ramalinaceae) from China [J]. *The Bryologist*, 2021, 124(2): 162-171.

[10] 刘玉洁, 王立宝, 董 娜, 等. 蜡盘衣属 1 中国新记录种——肉蜡盘衣(新拟)[J]. 西北植物学报, 2019, 39(5): 950-952.
LIU Y J, WANG L B, DONG N, *et al.* A newly recorded species of the lichen genus *Biatora* from China[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(5): 950-952.

[11] 帕丽旦·艾海提, 艾尼瓦尔·吐米尔. 中国鸡皮衣属和泡鳞衣属地衣 2 个新记录种[J]. 西北植物学报, 2021, 41(4): 712-715.
AHAT Parida, TUMUR Anwar. Two new records for lichen genera *Pertusaria* and *Toninia* of China[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(4): 712-715.

[12] 阿布地力木·阿布来提, 范胜男, 艾木拉古丽·达迪汗, 等. 新疆原类梅属地衣的初步研究[J]. 西北植物学报, 2021, 41(6): 1 062-1 070.
ABUDILIMU Abulaiti, FAN S N, AIMULAGULI Dadihan, *et al.* Preliminary study on the lichen genus *Protoparmeliopsis* in Xinjiang, China[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(6): 1 062-1 070.

[13] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, *et al.* Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics [M]//PCR Protocols. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322.

[14] KUMAR S, STECHER G, LI M, *et al.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1 547-1 549.

(编辑:潘新社)