

文章编号 1672-6634(2024)06-0096-12

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2024050002

中国小核衣属(小核衣科)地衣二新记录种

李洁晨, 豆明珠, 贾泽峰

(聊城大学 农学与生物学院, 山东 聊城 252059)

摘要 对采自云南的小核衣属(*Pyrenula*)地衣进行形态学、解剖学、化学以及基于转录间隔区(ITS)、核糖体大亚基(nuLSU)、线粒体小亚基(mtSSU)三基因联合的系统发育学分析,发现了两个小核衣属中国新记录种,分别是黑团壳小核衣*P. massariospora* (Starbäck) R. C. Harris 和类平滑小核衣*P. subglabrata* (Nyl.) Müll. Arg.。该文对这两个中国新记录种进行了详细的特征描述,提供了形态与解剖照片和子囊孢子为横隔透镜型的中国小核衣属地衣分种检索表,该研究结果丰富了中国小核衣属地衣的物种多样性。

关键词 地衣型真菌;子囊菌门;系统发育;分类学;新记录

中图分类号 Q949.34

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Two New Records of the Genus *Pyrenula* (Pyrenulaceae) from China

LI Jiechen, DOU Mingzhu, JIA Zefeng

(College of Agriculture and Biology, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract Based on the methods of morphology, anatomy, chemistry and phylogeny (ITS, nuLSU and mtSSU), a study was carried out on the genus *Pyrenula* collected from Yunnan Province, *P. massariospora* (Starbäck) R. C. Harris and *P. subglabrata* (Nyl.) Müll. Arg. are recorded as new to China. A detailed description and the morphological photos are provided for each species, a key for all the known *Pyrenula* species with septate ascospores from China is also provided. The results of the research will enrich the biodiversity of *Pyrenula* in China.

Key words lichenized fungi, Ascomycota, phylogeny, taxonomy, new records

0 引言

小核衣属 *Pyrenula* Ach. 隶属于真菌界 Fungi、子囊菌门 Ascomycota、散囊菌纲 Eurotiomycetes、小核衣目 Pyrenulales、小核衣科 Pyrenulaceae。Acharius 于 1814 年以小核衣 *Pyrenula nitida* (Weigel) Ach. 为模式种建立该属^[1]。

小核衣属多生长于热带亚热带光滑树皮上^[2,3],该属的主要特征为:地衣体壳状,多为灰绿色、黄色,有

收稿日期:2024-05-14

基金项目:国家自然科学基金项目(32300005, 31750001)资助

通信作者:贾泽峰,男,汉族,博士,教授,研究方向:地衣生物学, E-mail: zjfia2008@163.com。

些种有假杯点;很少含有薄层层析可检测出的化学物质;子囊器子囊壳型,多为散生,偶聚集,一般为黑色,孔口顶生或侧生;子实层为渗入或非渗入型;子囊多为棒状,8孢,少数为2~4孢或单孢;孢子横隔透镜型或(亚)砖壁型,横隔透镜型孢子的胞室为圆形、菱形或细长型;成熟孢子一般为棕色,少数种的过度成熟孢子有橙红色油滴^[3,4]。目前世界范围内报道小核衣属地衣有245种^[5,6],中国累计报道44种^[3,6-8],以香港、台湾居多。中国已报道小核衣属物种中,仅3个物种^[6]为综合表型特征及系统发育学分析定种,其他均仅依靠表型特征定种。本研究对采自云南的标本进行整理和鉴定的过程中,综合表型特征及系统发育学分析发现了小核衣属地衣的两个中国新记录种,即黑团壳小核衣 *Pyrenula massariospora* (Starbäck) R. C. Harris 和类平滑小核衣 *P. subglabrata* (Nyl.) Müll. Arg.,现予以报道。

1 材料与方法

1.1 标本

本研究标本采自云南,现保存于聊城大学生命科学学院地衣标本馆(LCUF)和中国科学院昆明植物研究所地衣标本馆(KUN-L)。

1.2 表型分析

使用体式显微镜(Olympus SZX16)对标本进行形态学观察、拍照和解剖,在光学显微镜(Olympus BX53)下进行解剖特征的观察和拍照。用碘液检测子囊及其孢子是否含有淀粉。将试剂K(10% KOH水溶液)、C(次氯酸钙饱和水溶液)、P(苯二胺的95%乙醇溶液),滴加在地衣体上观察颜色反应(CT);使用标准化薄层色谱技术(Thin layer chromatography techniques, TLC)对地衣次生代谢产物进行分析,所用溶剂为C系统^[9,10]。

1.3 基因型分析

DNA提取、PCR扩增、测序 使用Sigma-Aldrich REDExtract-N-Amp™试剂盒,按照说明书进行基因组DNA的提取。使用引物ITS1F/ITS4^[11]、AL2R/LR6^[12]和mrSSU1/mrSSU3R^[13]分别扩增内源转录间隔区(ITS)片段、核糖体大亚基(nuLSU)和线粒体小亚基(mtSSU)片段。采用50 μL PCR反应体系:引物各2 μL (10 μmol/L),基因组DNA 2 μL, ddH₂O 19 μL, 2×Taq PCR Master Mix 25 μL。扩增程序参照Shi等人(2023)的方法进行^[14],扩增完成后使用1%琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增产物,送擎科生物科技股份有限公司(北京)进行测序。

序列比对和系统发育分析 使用软件Geneious v. 9.0.2(Biomatters Ltd., Auckland, NZ)对测序返回序列进行拼接,并从GenBank上下载所需的序列(如表1所示),这些序列包含了*Pyrenula*属在GenBank上能找到并筛选后可用的所有序列,以*Cyphellophora europaea*和*Endocarpon pusillum*为外类群^[7]。使用MAFFT v. 7^[15]对每个基因位点的序列进行比对,对ITS序列使用L-ING-i运算法则,对nuLSU序列使用“G-ING-i”运算法则并选取“leave gappy regions”参数项,对mtSSU序列使用“E-ING-i”运算法则,其他参数为默认值^[14]。使用R包alignmentFilter^[16]中的“maskSegment”函数来过滤比对不可靠的片段(控制过滤严格度的prob参数设置为0.05),然后使用“degap”函数去除矩阵中缺失(gap)超过50%的位点。使用PartitionFinder2 v2.1.1^[17]为贝叶斯(Bayesian inference, BI)分析选择最优模型,BI分析中,ITS序列最适模型为SYM+I+G,nuLSU和mtSSU序列最适模型均为GTR+I+G;使用PhyloSuite v. 1.2.3^[18-20]进行BI分析,运行两次并行链,每条链200万代,舍弃最初25%的样本数构建BI树。在CIPRES Scientific gateway portal (<http://www.phylo.org/portal2/>)使用RAxML-HP BlackBox v. 8.2.12^[21]构建ML(Maximum-likelihood)树,对各节点进行1000次重复以评价自展支持值。生成的系统发育树在Figtree v1.4.4下可视化。ML自展值(BS)大于等于70%及贝叶斯后验概率(PP)大于等于0.95的节点被认为显著支持。

表 1 系统发育分析所用的物种及序列信息

Table 1 Species and sequence information used for phylogenetic analysis

物种	标本号	采集地	GenBank 序列登记号		
			ITS	nuLSU	mtSSU
<i>Pyrenula massariospora</i>	YN222544	中国, 云南	PP739322	PP767409	PP764088
<i>P. subglabrata</i>	YN222496	中国, 云南	PP739323	PP767410	PP764089
<i>P. subglabrata</i>	AC20-93	中国, 云南	PP739324	PP767411	PP764090
<i>P. cf. acutalis</i>	F_19092_b	澳大利亚	-	DQ329026	DQ329001
<i>P. aff. aggregataspistea</i>	AA11618	巴西	-	KT808561	-
<i>P. aggregataspistea</i>	AA11216	巴西	KT820112	KT808557	KT808487
<i>P. anomala</i>	AA11222	巴西	KT820168	KT808607	KT808544
<i>P. anomala</i>	AA11607	巴西	KT820116	-	KT808490
<i>P. anomala</i>	AA15591	巴西	KT820113	-	KT808486
<i>P. arthoniotheca</i>	AA11887	巴西	KT820120	-	-
<i>P. aspistea</i>	AA11263	巴西	KT820121	KT808560	KT808491
<i>P. aspistea</i>	AA13547	巴西	KT820123	-	-
<i>P. aspistea</i>	CBS_109078	中国, 香港	-	EF411063	-
<i>P. aspistea</i>	CG3030	越南	KT820124	KT808562	KT808494
<i>P. aspistea</i>	CG3060	越南	KT820125	KT808564	KT808495
<i>P. aspistea</i>	CG3070	越南	KT820126	-	-
<i>P. aspistea</i>	CG3071	越南	KT820127	-	-
<i>P. aspistea</i>	GW1042	斯里兰卡	JQ927450	JQ927469	-
<i>P. aspistea</i>	GW1044	斯里兰卡	JQ927451	JQ927470	JQ927462
<i>P. aspistea</i>	RAMK17271	泰国	KT820128	-	KT808492
<i>P. aspistea</i>	RAMK17277	泰国	KT820129	KT808563	KT808493
<i>P. astroidea</i>	RAMK17281	泰国	KT820088	-	-
<i>P. astroidea</i>	RVH7	老挝	KT820089	KT808565	KT808496
<i>P. bahiana</i>	RVH1	老挝	KT820090	-	-
<i>P. bahiana</i>	RVH2	老挝	KT820091	KT808614	-
<i>P. bahiana</i>	RVH3	老挝	KT820092	KT808605	KT808498
<i>P. balia</i>	CG3063	越南	KT820130	KT808566	KT808499
<i>P. brunnea</i>	CG3023	越南	KT820093	-	-
<i>P. cf. subglabrata</i>	CG3028	越南	KT820140	KT808574	KT808509
<i>P. chlorospila</i>	CG1520b	英国	JQ927452	JQ927471	JQ927463
<i>P. cornutispora</i>	AA11938	巴西	KT820131	KT808618	KT808500
<i>P. cornutispora</i>	ISE_AA11938	巴西	NR_158911	NG_060160	-
<i>P. corticata</i>	AA11443	巴西	KT820132	KT808568	KT808501
<i>P. corticata</i>	AA11466	巴西	KT820133	KT808569	KT808502
<i>P. confinis</i>	AA13575	巴西	-	KT808567	KT808550
<i>P. cruenta</i>	Green_PYCR12	美国	KC592268	-	-
<i>P. cruenta</i>	Green_PYCR16	美国	KC592269	-	-
<i>P. cruenta</i>	Green_PYCR4	美国	KC592267	-	-
<i>P. cruenta</i>	Lutzoni_9806174	美国, 波多黎各	-	AF279407	-
<i>P. fetivica</i>	CG1963	越南	KT820134	-	KT808503

续表 1 系统发育分析所用的物种及序列信息

Table 1 Species and sequence information used for phylogenetic analysis

物种	标本号	采集地	GenBank 序列登记号		
			ITS	nuLSU	mtSSU
<i>P. fetivica</i>	GW307A	斯里兰卡	JQ927453	JQ927472	JQ927464
<i>P. fetivica</i>	GW835	斯里兰卡	JQ927454	-	JQ927465
<i>P. infraleucotrypa</i>	AA11105	巴西	KT820114	KT808558	KT808489
<i>P. infraleucotrypa</i>	AA11468	巴西	KT820136	-	-
<i>P. infraleucotrypa</i>	AA11499	巴西	KT820115	-	-
<i>P. infraleucotrypa</i>	AA15450	巴西	KT820142	KT808575	KT808510
<i>P. infraleucotrypa</i>	AA15451	巴西	KT820117	KT808559	KT808488
<i>P. inframamillana</i>	AA11220	巴西	KT820137	KT808572	KT808506
<i>P. inframamillana</i>	AA11272	巴西	KT820138	KT808571	KT808507
<i>P. inframamillana</i>	AA11897	巴西	KT820139	KT808573	KT808508
<i>P. laevigata</i>	OL_206758	挪威	MK812685	-	-
<i>P. laevigata</i>	OL_206773	挪威	MK812185	-	-
<i>P. laevigata</i>	Palice 5608	斯洛伐克	-	AY607736	AY568029
<i>P. cf. leucostoma</i>	F_19082	澳大利亚	-	DQ329024	DQ328999
<i>P. macrospora</i>	CG1520a	英国	JQ927455	JQ927473	JQ927466
<i>P. mamillana</i>	AA11342	巴西	KT820143	KT808576	KT808515
<i>P. mamillana</i>	AA11610	巴西	KT820144	KT808615	KT808516
<i>P. mamillana</i>	AA11846	巴西	KT820145	KT808617	KT808517
<i>P. mamillana</i>	AA15465	巴西	KT820146	KT808579	KT808519
<i>P. mamillana</i>	CG3014	越南	KT820147	KT808580	KT808511
<i>P. mamillana</i>	GW818A	斯里兰卡	JQ927456	JQ927474	JQ927467
<i>P. massariospora</i>	CG3061	越南	KT820153	KT808585	KT808521
<i>P. massariospora</i>	CG3062	越南	KT820154	KT808586	KT808522
<i>P. massariospora</i>	GW1028	斯里兰卡	JQ927457	JQ927475	JQ927468
<i>P. minor</i>	AA11505	巴西	KT820155	KT808620	KT808524
<i>P. minor</i>	AA13516	巴西	-	KT808587	KT808523
<i>P. minutispora</i>	AA11877	巴西	KT820119	-	-
<i>P. minutispora</i>	ABL_AA11877	巴西	NR_136140	-	-
<i>P. nitida</i>	17076	波兰	MN387114	-	-
<i>P. nitida</i>	17081	波兰	MN387115	-	-
<i>P. nitida</i>	17146	波兰	MN387116	-	-
<i>P. nitida</i>	17189	波兰	MN387117	-	-
<i>P. nitida</i>	F_5929	捷克共和国	JQ927458	DQ329023	DQ328998
<i>P. nitida</i>	s. n.	德国	-	AY607737	AY568030
<i>P. nitidella</i>	17082	波兰	MN387139	-	-
<i>P. nitidella</i>	CG3027	越南	KT820156	-	KT808525
<i>P. occidentalis</i>	OL_206777	挪威	MK811633	-	-
<i>P. ochraceoflava</i>	Gaya_160308_EGB11	美国	KC592275	-	KC592289
<i>P. paraminarum</i>	AA11012	巴西	KT820135	KT808570	KT808504
<i>P. paraminarum</i>	AA11471	巴西	-	-	KT808526

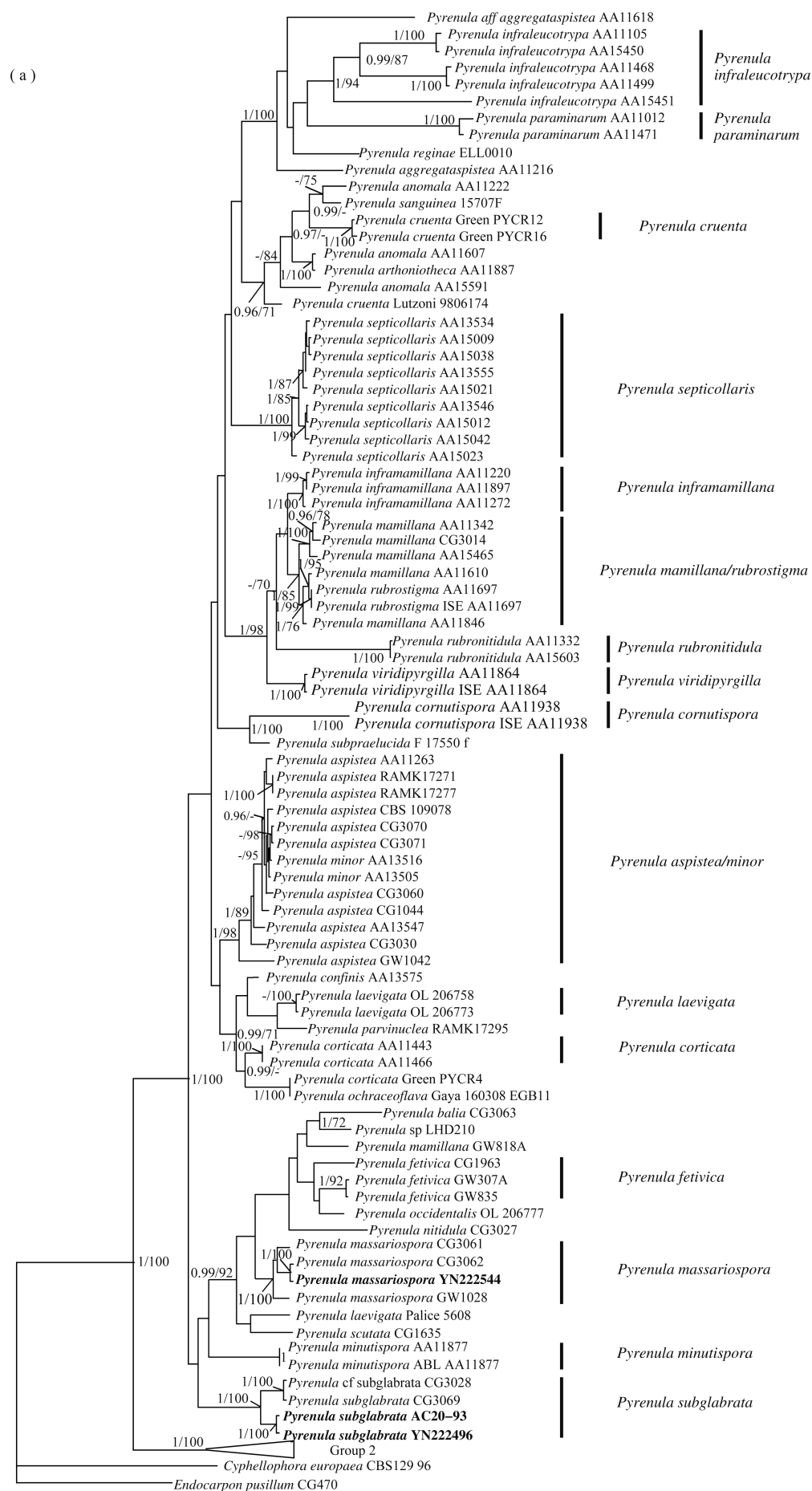
续表 1 系统发育分析所用的物种及序列信息

Table 1 Species and sequence information used for phylogenetic analysis

物种	标本号	采集地	GenBank 序列登记号		
			ITS	nuLSU	mtSSU
<i>P. parvinuclea</i>	RAMK17295	澳大利亚	-	-	KT808527
<i>P. punctella</i>	Tripp4522	-	KT232213	-	KT276274
<i>P. pyrenuloides</i>	CG1545	越南	KT820094	-	-
<i>P. quassiicola</i>	CG3001	越南	KT820098	KT808588	KT808528
<i>P. quassiicola</i>	CG3019	越南	KT820101	KT808591	KT808531
<i>P. quassiicola</i>	CG3032	越南	KT820104	KT808592	-
<i>P. quassiicola</i>	CG3033	越南	KT820105	KT808593	-
<i>P. quassiicola</i>	RVH6	老挝	KT820107	KT808595	KT808535
<i>P. sanguinea</i>	15707F	巴西	-	KF697129	KF697128
<i>P. leucostoma</i>	AFTOL_ID387	美国	DQ782845	-	-
<i>P. leucostoma</i>	DUKE_0047599	-	NR_119610	NG_068722	-
<i>P. leucostoma</i>	Reeb VR 14 VI 025	美国	-	AY640962	-
<i>P. reginae</i>	ELL0010	巴西	-	KT808596	-
<i>P. rubronitidula</i>	AA11332	巴西	KT820157	KT808597	-
<i>P. rubronitidula</i>	AA15603	巴西	KT820158	-	-
<i>P. rubrostigma</i>	AA11697	巴西	KT820159	KT808616	KT808539
<i>P. rubrostigma</i>	ISE_AA11697	巴西	NR_158913	NG_06015	-
<i>P. scutata</i>	CG1635	越南	KT820160	KT808598	KT808540
<i>P. septicollaris</i>	AA13534	巴西	KT820166	KT808610	KT808551
<i>P. septicollaris</i>	AA13546	巴西	KT820161	-	-
<i>P. septicollaris</i>	AA13555	巴西	KT820167	-	-
<i>P. septicollaris</i>	AA15009	巴西	-	KT808599	KT808541
<i>P. septicollaris</i>	AA15012	巴西	KT820162	KT808600	-
<i>P. septicollaris</i>	AA15021	巴西	KT820163	KT808601	KT808542
<i>P. septicollaris</i>	AA15023	巴西	KT820164	KT808602	-
<i>P. septicollaris</i>	AA15038	巴西	-	KT808603	-
<i>P. septicollaris</i>	AA15042	巴西	KT820165	KT808604	-
<i>P. sexlocularis</i>	RAMK17261	泰国	KT820108	KT808606	KT808543
<i>P. sp.</i>	F19113n	澳大利亚	-	DQ329027	DQ329002
<i>P. sp.</i>	CG3009	越南	KT820110	KT808611	KT808547
<i>P. sp.</i>	F19082r	澳大利亚	JQ927461	DQ329025	DQ329000
<i>P. sp.</i>	LHD210	越南	AB935436	-	-
<i>P. subelliptica</i>	RVH5	老挝	KT820106	KT808594	KT808534
<i>P. subglabrata</i>	CG3069	越南	KT820169	KT808608	KT808545
<i>P. subpraelucida</i>	F_17550_f	哥斯达黎加	-	DQ329015	DQ328986
<i>P. thelemorpha</i>	CG3056	澳大利亚	JQ927460	KT808609	KT808546
<i>P. viridipyrgilla</i>	AA11864	巴西	KT820170	KT808619	KT808548
<i>P. viridipyrgilla</i>	ISE_AA11864	巴西	NR_158914	-	-
<i>Cyphellophora europaea</i>	CBS129_96	-	EF551553	FJ358248	FJ225750
<i>Endocarpon pusillum</i>	CG470	-	JQ927447	EF643754	FJ225677

注:本研究自测序列加粗表示。

Note: The new sequences generated in this study are indicated in boldface.



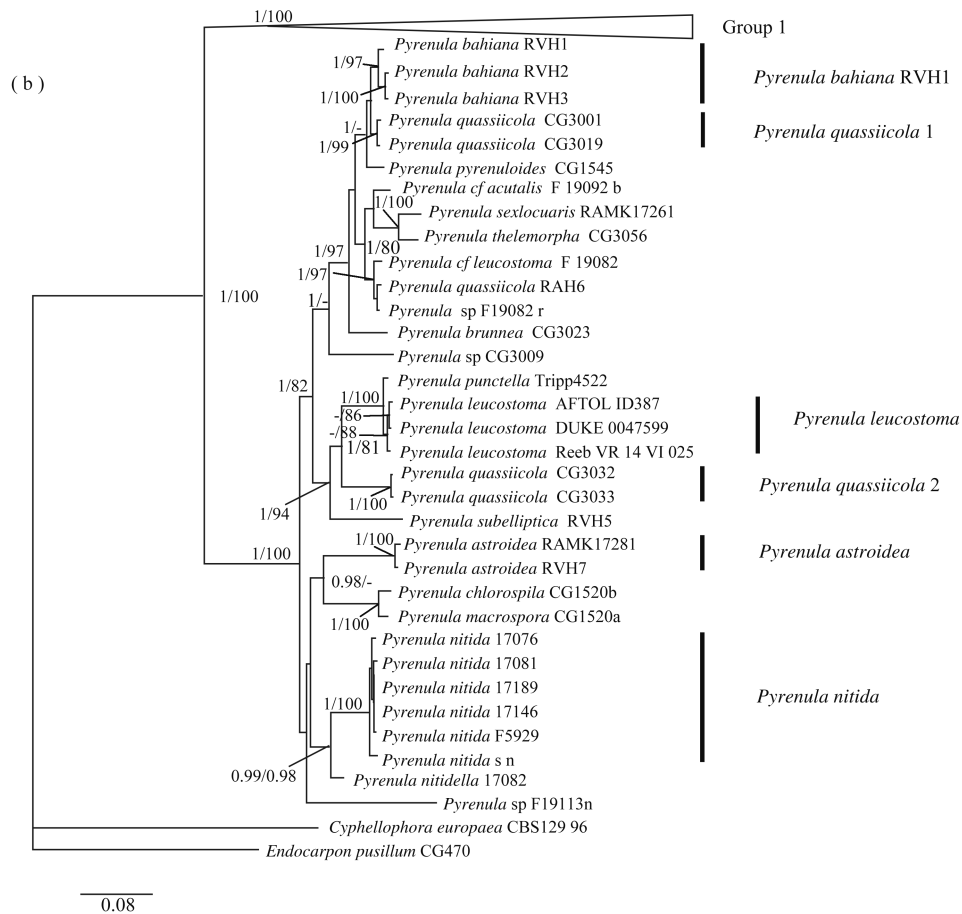


图 1 基于 ITS、nuLSU、mtSSU 序列构建的贝叶斯系统发育树 (a) 为该系统发育树概况及 Group1 的细节; (b) 为 Group2 的细节仅显示贝叶斯后验率大于 0.95 和 ML 自展值大于 70 的支持率, 本研究报道的物种及新生成的序列用粗体表示

Fig. 1 MrBayes tree showing the phylogeny of *Pyrenula* based on a three-gene dataset (ITS, nuLSU and mtSSU); (a) Support values are reported near the node [posterior probability (PP)/bootstrap value (BS)]; (b) Only significant values (higher than 95% PP and higher than 70% BS) are shown, the species reported in this study and newly generated sequences are in bold

2 结果与分析

2.1 系统发育分析

基于 102 条 ITS 序列, 81 条 nuLSU 序列, 74 条 mtSSU 序列进行了系统发育分析, 其中 3 条 ITS 序列, 3 条 nuLSU 序列, 3 条 mtSSU 序列为本研究自测序列(表 1)。ML 树和 BI 树具有相似的拓扑结构, 因此文中仅展示了 BI 系统发育树(图 1)。系统发育结果显示, 本研究标本 YN222544 与越南标本 *Pyrenula massariospora* CG3062 聚为一支(支持率为 1/100), 且该分支嵌套在越南标本 *P. massariospora* CG3061 与斯里兰卡标本 *P. massariospora* GW1028 中(支持率为 1/100); 本研究标本 YN222496 和 AC20-93 聚为一支(支持率为 1/100), 与越南标本 *P. subglabrata* CG3069 和 *P. cf. subglabrata* CG3028 相聚为姐妹类群(支持率 1/100)。

2.2 分类

2.2.1 黑团壳小核衣。 *Pyrenula massariospora* (Starbäck) R. C. Harris, Mem. N. Y. bot. Gdn 49: 95 (1989)(图 2)。

≡ *Clypeosphaeria massariospora* Starbäck, Bihang til Kongliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar 25 (1): 62 (1899)。

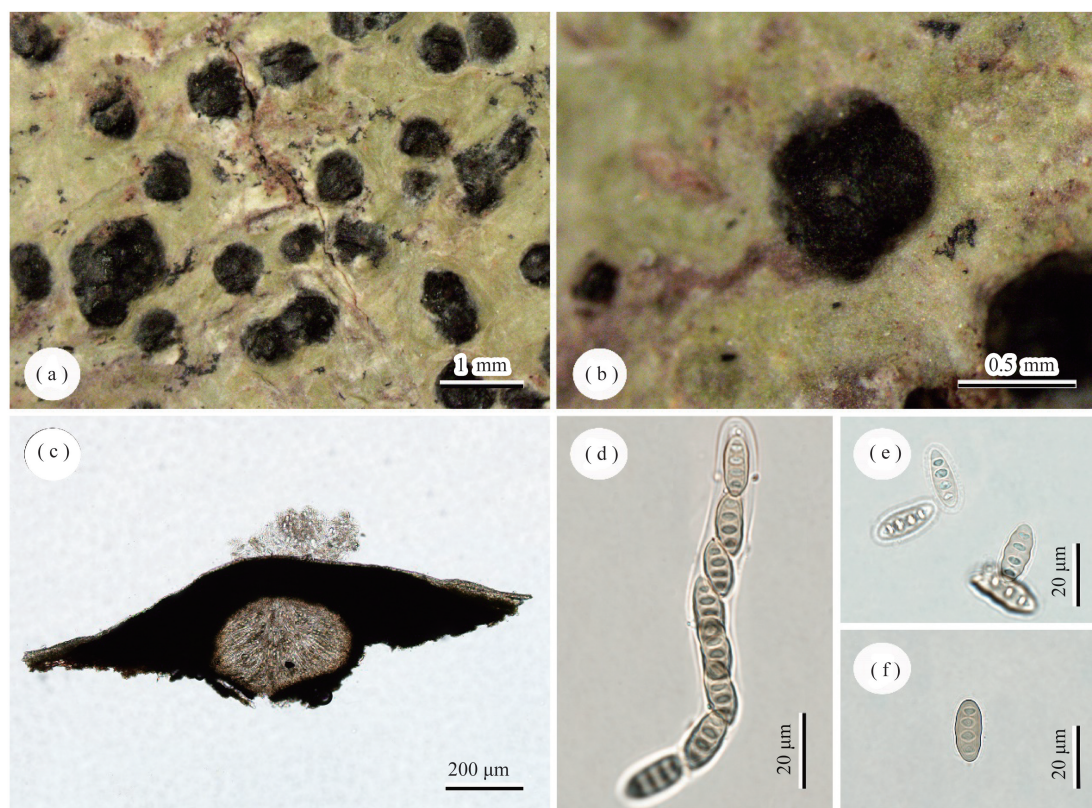
Type: Brazil: Rio de Janeiro, Corcovado, in the bark of a certain tree, No: 10. Gust. A:n. Malme, S-F46456 [holotype]。

地衣体壳状,具皮层,树皮生,墨绿色,光滑,有光泽;无假杯点。子囊壳近球形,多散生,偶聚生,直径0.55~0.85 mm,凸出于地衣体;孔口顶生,多为灰褐色;子实层为充满透明油滴的渗入型,IKI-,侧丝末端部分分支。子囊含有8个子囊孢子,单列排布,长棒状,大小为90.0~108.0 μm ×7.5~17.0 μm ;子囊孢子为横隔透镜型,3隔,短棒状,浅褐色,大小为20.0~25.0 μm ×6.5~8.5 μm ,幼时子囊孢子外有胶质鞘;中间胞室横向扁椭圆形至菱形,末端胞室三角形至椭圆形,末端胞室与孢子周壁间具孢子内壁。

化学反应:K-,C-,KC-,P-,TLC未检测出地衣化学物质。

研究标本:云南:勐腊县,补蚌村,101°35′03″E,21°7′02″N,海拔645 m,树皮,2022.09.06,贾涛YN222544(LCUF)。

世界分布:泛热带到南温带分布,多见于低地森林^[26],如:巴西^[22]、美国^[23]、印度^[24]、哥斯达黎加^[25]。中国新记录种。



注:(a,b) 地衣体和子囊壳;(c) 子囊壳纵切面;(d) 子囊及子囊孢子;(e,f) 子囊孢子。

Note: (a,b) thallus with perithecia; (c) section of perithecium; (d) ascus with ascospores; (e,f) ascospore(s).

图2 黑团壳小核衣(贾涛 YN222544,LCUF)

Fig. 2 *Pyrenula massariospora* (T. Jia YN222544,LCUF)

讨论:本研究标本与模式标本(巴西)特征基本一致,但模式标本的子囊孢子较短,为16~20 μm ^[22];本研究标本与北美的标本特征基本一致,但后者的子囊孢子较宽,为7.5~10 μm ^[23];本研究标本与印度的标本特征基本一致,但后者的子囊壳较小,为0.3~0.5 mm,子囊孢子较宽些,为10~18 μm ^[24];与哥斯达黎加^[25]和澳大利亚^[26]的标本特征基本一致,但后者子实层IKI+蓝色。在系统发育树中,本研究标本嵌套在*Pyrenula massariospora*的越南标本CG3061、CG3062以及斯里兰卡标本GW1028构成的分支中。

*Pyrenula massariospora*的形态解剖特征类似于*P. acutalis* R. C. Harris,但后者子囊孢子末端尖,且末端胞室紧贴孢子周壁并伸出^[25];该种与*P. mamillana* (Ach.) Trevis也较相似,不同之处在于后者子囊壳较大(1.0~1.5 mm),子囊孢子较小(15.5~21 μm ×5.5~8 μm)^[23]。系统发育分析也表明本研究标本与*P. acutalis*、*P. mamillana*具有较远的亲缘关系。

综合形态解剖特征和分子数据分析,本研究标本鉴定为*P. massariospora*。

2.2.2 类平滑小核衣。 *Pyrenula subglabrata* (Nyl.) Müll. Arg., Bot. Jb. 6: 410 (1885)(图 3)

≡ *Verrucaria subglabrata* Nyl., in Nylander & Crombie, J. Linn. Soc., Bot. 20: 60 (1883)

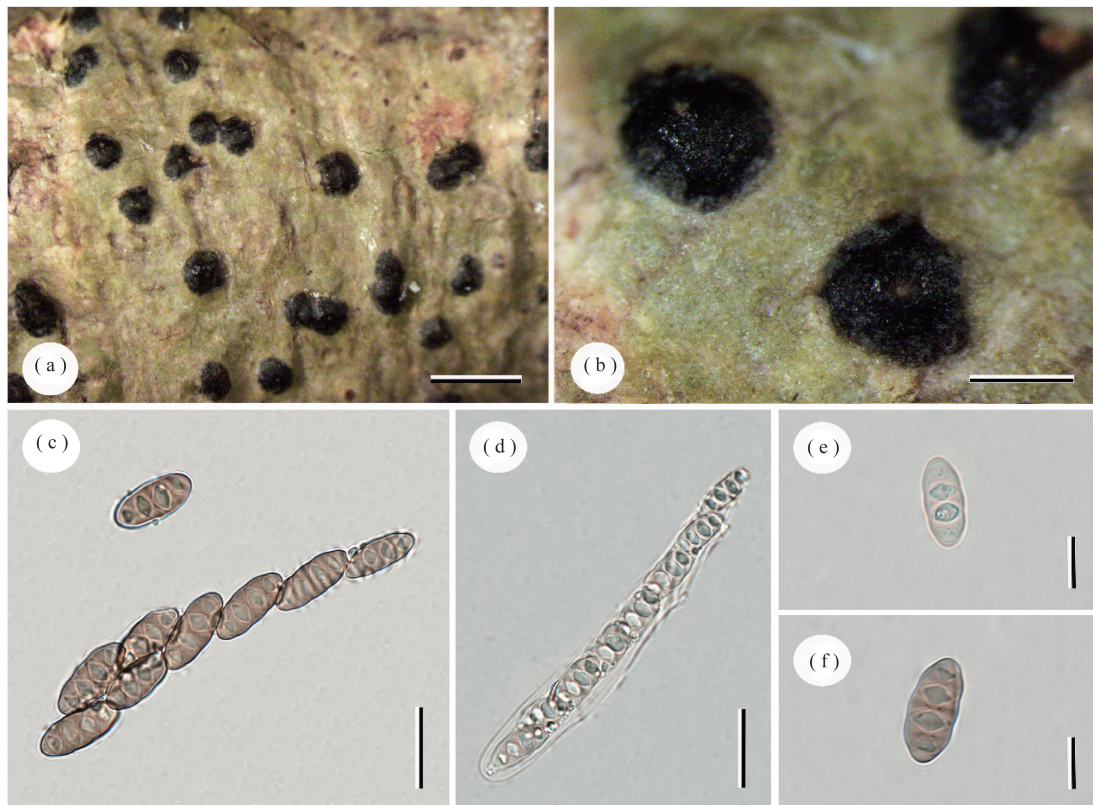
Type: Malaysia, Malacca, 102.2577°E, 2.2°N, Herb. W. Nylander, H-NYL no. 1405 [holotype]

地衣体壳状,具皮层,树皮生,褐绿色,光滑,无光泽,无假杯点。子囊壳半球形,散生,直径 0.50~0.80 mm,凸起状,不含蒽醌类物质;孔口顶生,多为褐色;子实层为充满透明油滴的渗入型,IKI-。子囊含有 4~8 个子囊孢子,长棒状,大小为 82.0~151.0 μm ×12.0~18.5 μm ;子囊孢子为横隔透镜型,3 隔,短棒状,褐色,大小为 17.0~23.0 μm ×7.5~10.0 μm 成熟孢子略缢缩;中间胞室横向扁椭圆形至菱形,末端胞室比中间胞室小,呈三角形至多边形,末端胞室与孢子周壁间具孢子内壁。

化学反应:K-,C-,KC-,P-,TLC 未检测出地衣化学物质。

研究标本:云南:勐腊县,勐仑镇,林乐园山庄,101°16'09"E,21°55'55"N,海拔 540 m,橡胶树树皮,2022.09.04,贾涛 YN222496(LCUF);勐腊县,中国科学院西双版纳热带植物园,101°16'16.65"E,21°55'30.37"N,海拔 609 m,橡胶树树皮,2020.11.26,谢聪苗 AC20-93(KUN-L 74658)。

世界分布:马来西亚^[27]、越南^[28]、印度^[29]、新加坡^[8]。中国新记录种。



注:(a,b) 地衣体和子囊壳;(c,d) 子囊与子囊孢子;(e) 未成熟的子囊孢子;(f) 成熟的子囊孢子。

Note: (a,b) thallus with perithecia; (c,d) ascus with ascospores; (e) immature ascospore; (f) mature ascospore.

图 3 类平滑小核衣(贾涛 YN222496,LCUF)

Fig. 3 *Pyrenula subglabrata* (T. Jia YN222496,LCUF)

讨论:本研究标本与模式标本(马来西亚)和越南标本 *Pyrenula subglabrata* CG3069 特征基本一致,且在系统发育树中,本研究标本与越南标本 *P. subglabrata* CG3069、*P. cf. subglabrata* CG3028 聚为一支;本研究标本与印度的标本特征基本一致,但后者子囊壳较小(0.3~0.5 mm),子囊孢子较短(16~22 μm)且略宽些(8~11 μm)^[29]。

Pyrenula subglabrata 的形态特征与于 *P. occidentalis* (R. C. Harris) R. C. Harris 相似,但后者地衣体或者子囊壳含有蒽醌类化合物^[8];该种与 *P. mamillana* (Ach.) Trevis 也较相似,但后者子囊内都含有 8 个孢子,且子囊壳较大(1.0~1.5 mm)^[23]。系统发育分析也表明本研究标本与 *P. occidentalis*、*P. ma-*

millana 具有较远的亲缘关系。

综合形态解剖特征和分子数据分析,鉴定本研究标本为 *P. subglabrata*。

3 孢子为横隔透镜型的中国小核衣属地衣分种检索表

- 1a 孔口大多数侧生,朝向不同的方向,若子囊壳内有多个腔则其具有共同的孔口 2
 1b 孔口顶生,若侧生则孔口都指向同一个方向,若子囊壳内有多个腔则每个腔都有独立孔口 4
 2a 末端胞室紧贴孢子周壁,子囊孢子长 $16\sim 25\ \mu\text{m}$ *Pyrenula circumfiniens* Vain.
 2b 末端胞室与孢子周壁间具有孢子内壁 3
 3a 子囊孢子长 $35\sim 45\ \mu\text{m}$ *Pyrenula adacta* Fée
 3b 子囊孢子长 $18\sim 30\ \mu\text{m}$ *Pyrenula acutispora* Kalb & Hafell
 4a 子囊孢子至少有 4~7 横隔,过成熟的孢子有橙红色油滴,地衣体常具有假杯点
 *Pyrenula sexocularis* (Nyl.) Müll. Arg.
 4b 子囊孢子全部为 3 隔 5
 5a 子囊孢子长 $(45\sim)50\sim 60\ \mu\text{m}$,地衣体没有乳头状突起但有假杯点 *Pyrenula immissa* (Stirt.) Zahlbr.
 5b 子囊孢子长度大多小于 $50\ \mu\text{m}$ 6
 6a 地衣体有红色斑块或完全红色,子囊孢子长 $27\sim 35\ \mu\text{m}$ *Pyrenula cruenta* (Mont.) Vain.
 6b 子囊壳和地衣体不含外部色素 7
 7a 子囊壳多聚生,壁融合但有独立的孔口 8
 7b 子囊壳多散生,只有拥挤时偶然聚集 10
 8a 过成熟的孢子具橙红色油滴,子实层渗入型,子囊孢子大小为 $28.5\sim 50\ \mu\text{m}\times 10\sim 20\ \mu\text{m}$
 *Pyrenula inspersa* M. Z. Dou & Z. F. Jia
 8b 过成熟的孢子无橙红色油滴 9
 9a 子囊孢子大多长 $21\sim 25\ \mu\text{m}$ *Pyrenula leucotrypa* (Nyl.) Upreti
 9b 子囊孢子大多长 $15\sim 20\ \mu\text{m}$ *Pyrenula anomala* (Ach.) Vain.
 10a 过成熟的孢子具橙红色油滴 11
 10b 过成熟的孢子无橙红色油滴 14
 11a 子囊孢子长度小于 $35\ \mu\text{m}$ 12
 11b 子囊孢子长度大于 $35\ \mu\text{m}$ 13
 12a 末端胞室紧贴孢子周壁 *Pyrenula apiculata* M. Z. Dou & Z. F. Jia
 12b 末端胞室与孢子周壁间具孢子内壁 *Pyrenula bahiana* Malme
 13a 子实层 IKI-, TLC 没有检测出地衣化学物质 *Pyrenula thailandica* Aptroot
 13b 子实层 IKI+ 红色,在 C 系统条件下, TLC 检测出一种 $R_f=4$ 的未知化学物质
 *Pyrenula thailandicoides* M. Z. Dou & Z. F. Jia
 14a 末端胞室紧贴孢子周壁 15
 14b 大多数末端胞室(至少成熟子囊孢子的末端胞室)与孢子周壁间具孢子内壁 19
 15a 地衣体 UV+黄色 *Pyrenula pseudobufonia* (Rehm) R. C. Harris
 15b 地衣体 UV- 16
 16a 子实层渗入型 17
 16b 子实层非渗入型 *Pyrenula nitidula* (Bres.) R. C. Harris
 17a 子囊孢子长度全部小于 $16\ \mu\text{m}$ *Pyrenula cayennensis* Müll. Arg.
 17b 子囊孢子长度部分大于 $16\ \mu\text{m}$ 18
 18a 子实层只有上半部分为渗入型 *Pyrenula acutalis* R. C. Harris
 18b 子实层完全渗入 *Pyrenula fetivica* (Krempelh.) Müll. Arg.
 19a 子实层渗入型 20
 19b 子实层非渗入型 24

20a 中间胞室伸长	<i>Pyrenula subelliptica</i> (Tuck.) R. C. Harris	
20b 中央胞室横向透镜状至圆形		21
21a 子囊壳直径大多小于 0.7 mm, 地衣体和子囊壳无任何蒽醌类物质	<i>Pyrenula subglabrata</i> (Nyl.) Müll. Arg.	
21b 子囊壳直径大多大于 0.7 mm		22
22a 子囊孢子大多长 10~20 μm	<i>Pyrenula mamillana</i> (Ach.) Trevis.	
22b 子囊孢子长度大多大于 20 μm		23
23a 子囊孢子的胞室圆形, 在子囊内单列排布	<i>Pyrenula massariospora</i> (Starb.) R. C. Harris	
23b 子囊孢子至少有一端尖, 在子囊内双列排布	<i>Pyrenula acutalis</i> R. C. Harris	
24a 地衣体 UV+黄色	<i>Pyrenula dermatodes</i> (Borrer) Schaer	
24b 地衣体 UV-或呈现绿色、白色		25
25a 子囊孢子长度大多大于 25 μm		26
25b 子囊孢子长度大多小于 25 μm		30
26a 子囊孢子长 36~45 μm	<i>Pyrenula subducta</i> (Nyl.) Müll. Arg.	
26b 子囊孢子长度小于 40 μm		27
27a 子囊壳直径大多大于 0.7 mm	<i>Pyrenula complanata</i> (Mont.) Trevis.	
27b 子囊壳直径大多小于 0.7 mm		28
28a 子囊孢子长 32~42 μm	<i>Pyrenula punctella</i> (Nyl.) Trevis.	
28b 子囊孢子长度大多 25~37 μm		29
29a 中央胞室宽大于长, 地衣体不带有假杯点	<i>Pyrenula mastophora</i> (Nyl.) Müll. Arg.	
29b 中央胞室或多或少呈圆形, 地衣体常带有假杯点	<i>Pyrenula quassiaecola</i> (Fée) Fée	
30a 子囊孢子长度大多 21~25 μm		31
30b 子囊孢子长度大多小于 21 μm		34
31a 子囊壳内部有红色、KOH+紫色晶体, 子囊壳直径大于 0.5 mm	<i>Pyrenula nitida</i> (Weigel) Ach.	
31b 子囊壳不含红色晶体		32
32a 胞室菱形	<i>Pyrenula micheneri</i> R. C. Harris	
32b 胞室圆形或四边形		33
33a 子囊孢子至少有一个末端呈尖形	<i>Pyrenula acutispora</i> Kalb & Hafellner	
33b 子囊孢子末端呈圆形	<i>Pyrenula submastophora</i> Ajay Singh & Upreti	
34a 子囊孢子长度大多小于 15 μm		35
34b 子囊孢子长度大多大于 15 μm		36
35a 子囊孢子宽 6~8 μm	<i>Pyrenula brunnea</i> Fée	
35b 子囊孢子宽 4~6 μm	<i>Pyrenula aspistea</i> (Ach.) Ach.	
36a 子囊壳直径 大于 0.7 mm	<i>Pyrenula scutata</i> (Stirt.) Zahlbr.	
36b 子囊壳直径 小于 0.7 mm		37
37a 子囊孢子的胞室间有暗带	<i>Pyrenula confoederata</i> R. C. Harris	
37b 子囊孢子的胞室间无暗带	<i>Pyrenula aggregata</i> (Fée) Fée	

4 致谢

感谢国家自然科学基金项目(32300005, 31750001)的支持, 感谢标本采集者提供实验材料的帮助。

参 考 文 献

- [1] ACHARIUS E. Synopsis Methodica Lichenum[M]. Lund: Litteris et Sumptibus Svanborg et Soc, 1814.
- [2] MENDONÇA C O, APTROOT A, CÁCERES M E S. Six new species of the lichen genus *Pyrenula* (Pyrenulaceae) from northeast Brazil[J]. Phytotaxa, 2016, 286(3): 169-176.
- [3] APTROOT A. A World Key to the Species of *Anthracotheicum* and *Pyrenula*[J]. Lichenologist, 2012, 44(1): 5-53.

- [4] FU J M, APTROOT A, WANG Z L, et al. Four *Pyrenula* Species New to China[J]. Mycotaxon, 2019, 134(1): 155-160.
- [5] SIPMAN H J M. Four new *Pyrenula* species from primary forests in the Guianas, South America, and their ascospore development[J]. Folia Cryptog. Estonica, Fasc, 2023, 60: 65-74.
- [6] DOU M Z, LIU S N, LI J C, et al. Three new *Pyrenula* species with 3-septate ascospores with red or orange oil when over-mature (Ascomycota, Pyrenulales, Pyrenulaceae) from China[J]. MycoKeys, 2024, 102: 107-125.
- [7] 魏江春. 中国地衣型真菌综览[M]. 北京: 中国林业出版社, 2020.
- [8] APTROOT A. World key to the species of pyrenulaceae and trypeteliaceae[J]. Archive for lichenology, 2021, 29: 1-91.
- [9] ORANGE A, JAMES P W, WHITE F J. Microchemical Methods for the Identification of Lichens[M]. London: British Lichen Society, 2001.
- [10] 贾泽峰, 魏江春. 中国地衣志·第13卷·厚顶盘目(I)·文字衣科(1)[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- [11] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics[M]. San Diego CA: Academic Press, 1990.
- [12] VILGALYS R, HESTER M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(8): 4238-4246.
- [13] ZOLLER S, SCHEIDEGGER C, SPERISEN C. PCR primers for the amplification of mitochondrial small subunit ribosomal DNA of lichen-forming ascomycetes[J]. The Lichenologist, 1999, 31(5): 511-516.
- [14] SHI K J, JIA Z F, ZHAO X. A new species and two new records of the lichen genus *Fissurina* from China[J]. Diversity, 2023, 15, 959-967.
- [15] KATO H K, STANDLEY D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(4): 772-780.
- [16] ZHANG Q, QIN X M, LU Y B et al. A comprehensive alignment-filtering methodology improves phylogeny particularly by filtering overly divergent segments[J]. BioRxiv, 2023.
- [17] LANFEAR R, FRANDSEN P B, WRIGHT A M, et al. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution formolecular and morphological phylogenetic analyses[J]. Molecular biology and evolution, 2017, 34(3): 772-773.
- [18] ZHANG D, GAO F L, JAKOVLIĆ I, et al. PhyloSuite: An integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies[J]. Molecular Ecology Resources, 2020, 20(1): 348-355.
- [19] XIANG C Y, GAO F L, JAKOVLIĆ I, et al. Using PhyloSuite for molecular phylogeny and tree-based analyses[J]. iMeta, 2023, e87.
- [20] RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, et al. MrBayes 3. 2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. Systematic Biology, 2012, 61(3): 539-542.
- [21] MILLER M A, PFEIFFER W, SCHWARTZ T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees [C]. // Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (Gce). LA: New Orleans, 2010.
- [22] STARBÄCK K. Ascomyceten der ersten Regnellschen Expedition. I[J]. Bihang til Kongliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar, 1899, 25(1): 1-68.
- [23] HARRIS R C. A sketch of the family Pyrenulaceae (Melanommatales) in eastern North America[J]. Memoirs of the New York Botanical Garden, 1989, 49: 74-107.
- [24] INGLE K K, UPPADHYAY V, NAYAKA S, et al. New records and an updated key of *Pyrenula* from India[J]. Cryptogam Biodiversity and Assessment, 2018, (Special Volume 2018): 37-46.
- [25] APTROOT A, LÜCKING R, SIPMAN H J M. Pyrenocarpous lichens with bitunicate asci: a first assessment of the lichen biodiversity inventory in Costa Rica[J]. Bibliotheca Lichenologica, 2019, 94: 1-191.
- [26] APTROOT A. Pyrenulaceae Flora of Australia 57 (Lichens 5)[M]. Victoria: CSIRO Publishing, 2009.
- [27] MÜLLER J. Pyrenocarpeae Cubenses a cl. C. Wright lectae[J]. Botanische Jahrbücher für Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie, 1885, 6: 375-421.
- [28] SCHUMM F, APTROOT A. Atlas of Pyrenulaceae and Trypeteliaceae (Vol 4): Lichenized Ascomycota[M]. Germany: Books on Demand, 2022.
- [29] RAJAPRABU N, PONMURUGAN P, MISHRA G K. A new record of pyrenocarpous lichen to the Indian biota[J]. Journal of Threatened Taxa, 2021, 13(1): 17607-17610.

(责任编辑:刘庆松)