

槟榔点衣,中国点衣属地衣一新记录种

何宣宣,贾泽峰

(聊城大学 生命科学学院,山东 聊城 252059)

摘要 通过对点衣属(*Ocellularia*)形态学、解剖学、化学与分子生物学等研究,报道了采自福建的点衣属地衣一个中国新记录种,即槟榔点衣 *Ocellularia arecae* (Vain.) Hale。此外,提供了形态学、解剖学及化学特征。研究标本保藏于聊城大学生命科学学院菌物标本室(LCUF)。该研究结果丰富了中国疣孔衣科点衣属地衣的生物多样性。

关键词 地衣型真菌;文字衣目;疣孔衣科;分类学

中图分类号 Q949.34

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Ocellularia arecae, A New Record of the Lichen Genus *Ocellularia* in China

HE Xuanxuan, JIA Zefeng

(School of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract Based on the methods of morphology, anatomy, chemistry and phylogenetic analysis, *Ocellularia arecae* (Vain.) Hale is reported as new to China, and its specimens were collected from Fujian Province. In addition, the morphological, anatomical and chemical characteristics of the species are provided. The specimen examined is deposited in Fungarium of the College of Life Sciences, Liaocheng University (LCUF). The results of the research will enrich the biodiversity of *Ocellularia* (Thelotremaaceae) in China.

Key words lichenized fungi; Graphidales; Thelotremaaceae; taxonomy

1 引言

Meyer 在 1825 年新建了点衣属 *Ocellularia* G. Mey.。该属隶属于真菌界(Fungi)、子囊菌门(Ascomycota)、茶渍纲(Lecanoromycetes)、厚顶盘亚纲(Ostropomycetidae)、文字衣目(Graphidales)、疣孔衣科(Thelotremaaceae)^[1]。

该属多分布于热带亚热带地区,主要特征为地衣体壳状,多为橄榄绿色,表面光滑或粗糙,厚 0.1~0.5 mm;子囊盘圆形,直径(0.1~)0.3~2 mm;多具轴柱;盘被炭化;子囊含 1~8 孢子;子囊孢子横隔透镜型或砖壁型,12~350 μm $\times$ 6~50 μm ;I+ 紫罗兰色或 I⁻^[2,3]。

收稿日期:2023-03-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31750001)资助

通讯作者:贾泽峰,男,汉族,博士,教授,研究方向:地衣生物学研究,E-mail: zljia2008@163.com。

目前世界范围内报道点衣属 400 种^[4,5]。最早报道自中国的点衣属物种是采自台湾的 *Ocellularia alba* Müll. Arg.^[6], 随后, 中国又报道了 10 种, 主要分布于湖南、广西、贵州、台湾、香港等^[7-14]。因此, 有必要对我国点衣属类群进行进一步研究, 为我国地衣型真菌物种资源开发及利用提供基础资料。

2 材料与方法

2.1 实验材料

本研究所用材料来自福建, 现馆藏于聊城大学生命科学学院菌物标本室(LCUF)。

2.2 表型分析

采用 OLYMPUS SZX16 解剖显微镜对标本进行形态学观察和解剖, 采用 OLYMPUS BX53 复合显微镜进行观察、拍照并记录数据。用碘液检测子囊及其孢子的淀粉样度。滴加 10% KOH 溶液、NaClO 饱和水溶液、P 溶液(将对苯二胺溶于无水乙醇, 配成 5% 乙醇溶液)进行观察颜色反应。采用薄层层析法(TLC)对地衣化学物质进行鉴定^[15,16]。

2.3 基因型分析

DNA 提取、PCR 扩增、测序。使用 Sigma-Aldrich REDEExtract-N-AmpTM 植物 PCR 试剂盒从子囊盘中提取基因组 DNA, 采用 PCR 扩增核糖体 RNA 基因区, 即大亚基 rDNA(nuLSU), 引物为 AL2R/LR6^[17]。50 μ L PCR 反应体系包含引物(AL2R 与 LR6)各 2 μ L, 基因组 2 μ L DNA, 19 μ L ddH₂O, 25 μ L 2 $\times$ Taq PCR Master Mix。扩增程序包括 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min(共 35 个循环); 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。目的产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并由铂尚生物技术(上海)有限公司测序。序列信息见表 1。

表 1 系统发育分析所用标本信息和 GenBank 登录号

物种	标本号	产地	GenBank 登录号
<i>Ocellularia allosporoides</i>	Kalb 38813	泰国 Thailand	JX421544
<i>O. allosporoides</i>	Lumbsch 20204a	泰国 Thailand	JX421546
<i>O. laeviusculoides</i>	Luecking 32001	委内瑞拉 Venezuela	JX421569
<i>O. laeviusculoides</i>	Luecking 32037	委内瑞拉 Venezuela	JX421570
<i>O. microsorediata</i>	RivasPlata 107Ca	秘鲁 Peru	JX421572
<i>O. microsorediata</i>	RivasPlata 107Cb	秘鲁 Peru	JX421573
<i>O. microstoma</i>	Lumbsch 19108m	澳大利亚 Australia	JX421575
<i>O. microstoma</i>	RivasPlata 1085B	菲律宾 Philippines	JX421577
<i>O. psorbarroensis</i>	RivasPlata 108B	秘鲁 Peru	JX421587
<i>O. psorbarroensis</i>	RivasPlata 801D	秘鲁 Peru	JX421588
<i>O. psorbarroensis</i>	RivasPlata 801D	秘鲁 Peru	JX421589
<i>O. erodens</i>	UGDA19668	玻利维亚 Bolivia	MK542903
<i>O. erodens</i>	UGDA19568	玻利维亚 Bolivia	MK542902
<i>O. arecae</i>	Lumbsch 19161z	澳大利亚 Australia	JX421547
<i>O. cicra</i>	RivasPlata 108Da	秘鲁 Peru	JX421551
<i>O. cicra</i>	RivasPlata 108Db	秘鲁 Peru	JX421552
<i>O. arecae</i> *	FJ220304	福建 Fujian	-
<i>Reimnitzia santensis</i>	Luecking 28015	萨尔瓦多 El Salvador	HQ639664
<i>R. santensis</i>	Lumbsch 19706b	印度 India	JX421619
<i>Leptotrema wightii</i>	Luecking 2034A(F)	哥斯达黎加 Costa Rica	EU075622
<i>L. wightii</i>	Luecking 28095	萨尔瓦多 El Salvador	JF828977

注: * 表示新测序列。

构建系统发育树。使用软件 Geneious v.6.1.2(Biomatters Ltd., Auckland, NZ) 对原始序列进行组合和编辑。选择与点衣属亲缘关系较近的 *Leptotrema* 作为外类群^[18,19], 并从 NCBI 网站上下载所需的 20 条 nuLSU 序列(见表 1), 自测序列、NCBI 下载序列和外类群序列运用 Geneious v.6.1.2 进行序列比对并导出, 用 MAFFT version 7 对导出的序列进行校准^[20]。使用 CIPRES Scientific gateway portal(<http://www.phylo.org/portal2/>)^[21] 进行最大似然法(Maximum-likelihood, ML)和贝叶斯法(Bayesian inference, BI)分析。最大似然法(ML)使用 RAxML-HPG BlackBox v. 8.2.12^[22] 进行构建系统发育树, 对各节点进行 1 000 次重复以评价自展支持值; 对于贝叶斯分析, 使用 jModelTest 2.1.6^[23] 计算最佳模型, 在此基础上, 采用了 GTR+I+G 模型, 最后使用 MrBayes v. 3.2.7a 构建系统发育树。获得的系统发育树文件在 Figtree v.1.4.4 中查看和编辑。

3 结果

3.1 系统发育分析

在本研究中, 最大似然法(Maximum-likelihood, ML)和贝叶斯法(Bayesian inference, BI)具有相同的拓扑结构; 因此, 我们在这里只给出 ML 系统发育树, 自展支持值(bootstrap) $\geq 70\%$ 显示在节点上; 基于 nuLSU 序列构建 *Ocellularia* 的系统发育树, 共包括 21 条序列, 10 个分类单元, 其中 *Leptotrema wightii* (Taylor) Müll. Arg. 作为外群。

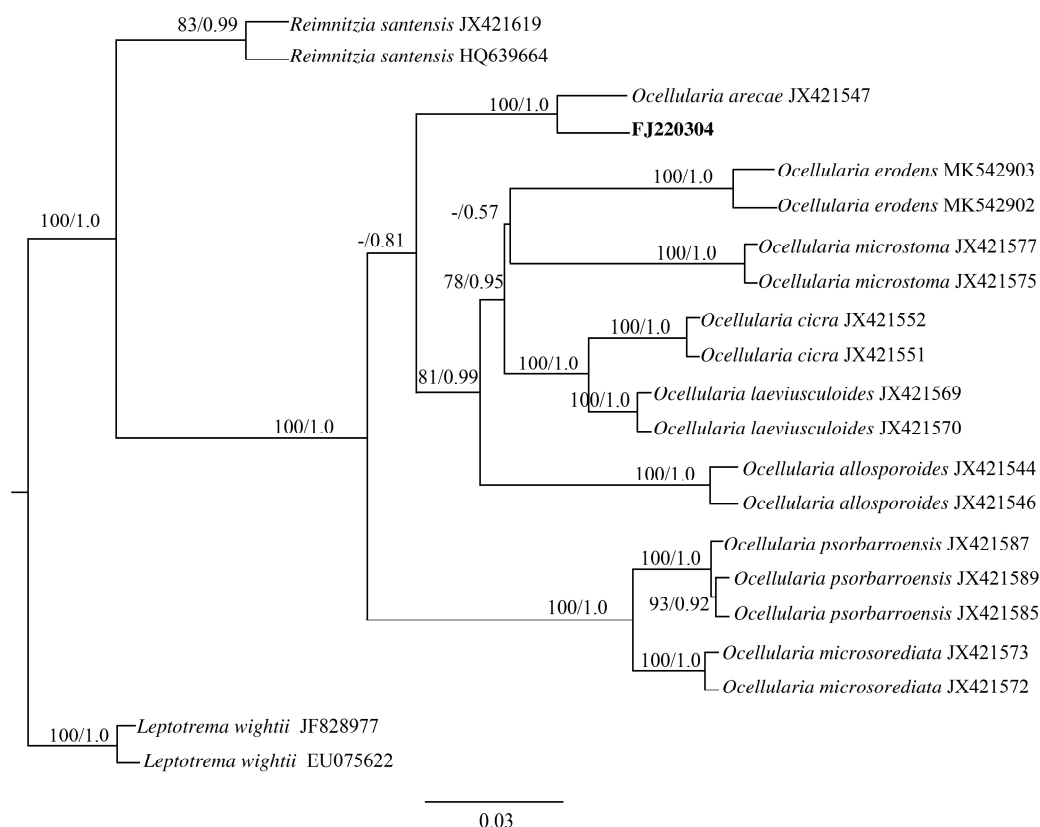


图 1 基于 nuLSU 序列构建的点衣属系统发育树(粗体表示本研究新测序列, 其余为 GenBank 下载序列)

3.2 分类

槟榔点衣, 如图 2。 *Ocellularia arecae* (Vain.) Hale, Mycotaxon 11(1): 136(1980)。

Type: Thailand['Siam'] - Insula Koh Chang, ad corticem *Arecae catechu*. leg. Johs. Schmidt, 1900 [TUR-VAIN 26767, holotype]。

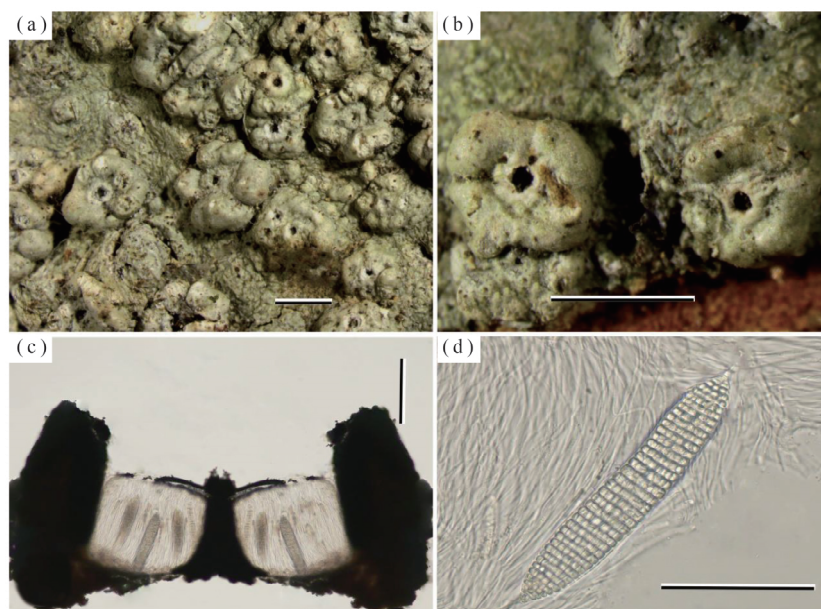
地衣体壳状, 树皮生, 表面灰绿色, 粗糙, 无光泽, 具微疣状突起。

子囊盘近圆形, 贴生, 直径 0.6~2 mm; 盘缘四周具疣状突起, 似花状; 中央具一黑色孔口; 具炭化的轴柱; 盘被炭化; 子实层厚 200~270 μm , 清晰状, 透明; 侧丝较单一, 平直, 宽 1~3 μm ; 囊层被浅黑色, 厚 15~

27 μm ;囊层基浅褐色,厚 20~35 μm ;子囊含有 1 个孢子;子囊孢子长棒状,两端稍尖,无色,砖壁型,孢室密集,165~210 $\mu\text{m} \times 24.5\sim 37 \mu\text{m}$,I+紫罗兰色。

化学反应:K+红棕色,C-,KC-,P-;含有副原冰岛衣酸(hypoprotocetraric acid)(TLC)。

基物:树皮。



注:(a、b)地衣体和子囊器(标尺 1: 1.0 mm);(c)子囊盘横切面(标尺 1: 200 μm);
(d)子囊孢子(标尺 1: 100 μm)。

图2 槟榔点衣(马振国 FJ220304)

研究标本:福建:漳州市,贡鸭山国家森林公园,观音亭,海拔 1 158 m,2022 年 7 月 13 日,马振国 FJ220304(LCUF)。

世界分布:澳大利亚^[24],泰国^[25]。中国新记录种。

讨论:该物种主要特征为地衣体壳状,具炭化的轴柱,子囊 1 孢,子囊孢子砖壁型,含有副原冰岛衣酸(hypoprotocetraric acid)。本研究标本与模式标本(Thailand)特征一致;本研究标本与澳大利亚(Australia)的标本特征基本一致,但本研究只检测出副原冰岛衣酸(hypoprotocetraric acid),而澳大利亚标本特征描述中还含有其他微量酸(2-hydroxyhypoprotocetraric acid, 2-hydroxynornotatic acid)。

Ocellularia arecae(Vain.) Hale 的分类特征类似于 *O. eumorpha*(Stirt.) Hale,后者子囊 1 孢,子囊孢子砖壁型,大小为 150~245 $\mu\text{m} \times 28\sim 50 \mu\text{m}$,含有副原冰岛衣酸(hypoprotocetraric acid),但后者不具有炭化的轴柱^[3]。该种与 *O. eumorphoides* Frisch 也较相似,不同之处在于后者的子囊孢子较小(70~125 $\mu\text{m} \times 19\sim 28 \mu\text{m}$)^[3]。

根据分子数据分析,该种与 *Ocellularia* 其他物种明显分开,且与 *O. arecae* 聚为一独立分支,支持值高达 100%,综合以上特征鉴定为 *O. arecae*。

4 致谢

感谢国家自然科学基金(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] LÜCKING R. Stop the abuse of time! Strict temporal banding is not the future of rank-based classifications in fungi(including lichens) and other organisms[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2019, 38(3): 199-253.
- [2] 任强. 中国地衣分属检索表[J].聊城大学学报(自然科学版),2023, 36(1): 107-110.
- [3] FRISCH A, KALB K, GRUBE M. Contribution towards a new systematic of the lichen family Thelotremaaceae[J]. Bibliotheca Lichen-

- logica, 2006, 92: 1-556.
- [4] WIJAYAWARDENE NN, HYDE KD, RAJESHKUMAR KC, et al. Notes for genera: ascomycota[J]. Fungal Diversity, 2017, 86: 1-594.
- [5] LÜCKING R, HODKINSON BP, LEAVITT SD. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota—approaching one thousand genera[J]. Bryologist, 2017, 119(4): 361-416.
- [6] ZAHLBRUCKNER A. Flechten der Insel Formosa[J]. Feddes Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis, 1933, 31: 194-224.
- [7] WANG-YANG JR, LAI MJ. A checklist of the lichens of Taiwan[J]. Taiwania, 1973, 18(1): 83-104.
- [8] APTROOT A, SEAWARD MRD. Annotated checklist of Hong Kong lichens[J]. Tropical Bryology, 1999, 17(1): 57-101.
- [9] LAI MJ. Illustrated macrolichens of Taiwan I[M]. Taipei: The Council of Agriculture, the Executive Yuan, 2000.
- [10] APTROOT A, SIPMAN HJM. New Hong Kong lichens, ascomycetes and lichenicolous fungi[J]. Journal of the Hattori Botanical Laboratory, 2001, 158(91): 317-343.
- [11] APTROOT A, SPARRIUS LB. New microlichens from Taiwan[J]. Fungal Diversity, 2003, 14(1): 1-50.
- [12] 崔璨, 王晓华, 贾泽峰. 中国点衣属地衣新记录种[J]. 菌物研究, 2014, 12(4): 203-205, 209.
- [13] JIA ZF, WANG LS, WU XL, et al. A study of *Ocellularia* (Graphidaceae) from China[J]. Mycosystema, 2016, 35(5): 1-6.
- [14] WEI JC. An enumeration of lichens in China[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2020.
- [15] ORANGE A, JAMES PW, WHITE FJ. Microchemical methods for the identification of lichens[M]. London: British Lichen Society, 2001.
- [16] 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.
- [17] VILGALYS R, HESTER M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172: 4238-4246.
- [18] RIVAS PLATA E, LÜCKING R, LUMBSCHE HT. Molecular phylogeny and systematics of the *Ocellularia* clade (Ascomycota: Ostropales: Graphidaceae)[J]. Taxon, 2012, 61(6): 1161-1179.
- [19] KRAICHAK E, PARNMEN S, LÜCKING R, et al. Revisiting the phylogeny of Ocellularieae, the second largest tribe within Graphidaceae (lichenized Ascomycota: Ostropales)[J]. Phytotaxa, 2014, 189(1): 52-81.
- [20] KATO K, STANDLEY DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30: 772-780.
- [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: 1-8.
- [22] STAMATAKIS A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies[J]. Bioinformatics, 2014, 30: 1312-1313.
- [23] DARRIBA D, TABOADA GL, DOALLO R, et al. jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing[J]. Nature methods, 2012, 9(8): 772.
- [24] MANGOLD A, ELIX JA, LUMBSCHE HT. Thelotremaaceae in MCCARTHY PM, KUCHLMAYRB. Flora of Australia 57 (Lichens 5) [M]. Victoria: CSIRO Publishing, 2009.
- [25] VAINIO EA. Lichenes novi rarioresque. Ser. IV[J]. Hedwigia, 1907, 46: 168-181.

(责任编辑: 刘庆松)