

埋生糙孢腹菌 (*Asperosporus subterraneus*) ——中国一新记录属种

谢德春^{1,2}, 何淑娴^{2,3}, 王超群², 宋 斌², 郝玉娥^{1*}, 张 明^{2*}

1. 南华大学衡阳医学院公共卫生学院卫生检验与检疫系, 湖南衡阳 421001; 2. 广东省科学院微生物研究所/华南应用微生物国家重点实验室/广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东广州 510070; 3. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642

摘 要: 通过传统形态分类学与现代分子系统学研究相结合的方法, 对采集自广东的一种腹菌类真菌进行鉴定与描述。结果表明: 研究标本为埋生糙孢腹菌 (*Asperosporus subterraneus* Karlsen-Ayala, Gazis & M.E. Sm.), 是 2021 年报道于美国佛罗里达州的蘑菇科新属糙孢腹菌属 (*Asperosporus* Karlsen-Ayala, Gazis & M.E. Sm.) 成员, 目前该属只包含这一个物种, 在我国首次被记录。埋生糙孢腹菌的主要特征是担子果不规则球形, 外包被稍皱, 初期白色至灰白色, 后期呈淡棕色; 子实体切开后初期淡绿色, 后变为粉红色, 有土腥味; 担孢子 14~18 μm ×11~16 μm , 宽椭圆形至近球形, 粗糙, 具锥形纹饰, 在 5% KOH 溶液中呈橙褐色, 在 Melzer 染液中加深为深棕色, 孢子上常附着担子小梗残留物。研究标本保藏于广东省科学院微生物研究所真菌标本馆 (GDGM)。

关键词: 蘑菇科; 糙孢腹菌属; 新记录; 系统发育; 形态学

中图分类号: S646.1.1 文献标识码: A

Asperosporus subterraneus, a New Record Species of China

XIE Dechun^{1,2}, HE Shuxian^{2,3}, WANG Chaoqun², SONG Bin², HAO Yu'e^{1*}, ZHANG Ming^{2*}

1. Department of Public Health Laboratory Science, School of Public Health, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences / State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China / Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou, Guangdong 510070, China; 3. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: In this paper, a combination of traditional morphological features and modern molecular phylogenetic analysis was used to identify and describe a gasteroid fungus collected from Guangdong. The studied specimens is *Asperosporus subterraneus* Karlsen-Ayala, Gazis & M.E. Sm., a member of the new genus *Asperosporus* Karlsen-Ayala, Gazis & M.E. Sm. of Agaricaceae which newly reported from Florida, USA, and firstly reported from China. *A. subterraneus* was mainly characterized by its irregular spherical basidiomata, white to grayish white at first, then becoming brownish when mature, rapidly stain pinkish-red when cut or bruised, earthy smell, Basidiospores, 14–18 μm ×11–16 μm , broadly elliptical to subglobose and thick-walled basidiospores ornamented with larger pyramidal to irregular warts, turn to orange brown in 5% KOH solution and dark brown when added to Melzer solution, and the spores were often attached with sterigma remnants. Specimens were deposited in the Fungarium of Guangdong Institute of Microbiology (GDGM).

Keywords: Agaricaceae; *Asperosporus*; newly recorded; phylogenetic; taxonomy

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.05.008

收稿日期 2022-07-05; 修回日期 2022-08-17

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31970016); 广东省科技项目 (No. 200706176270782); 广东省科技创新战略专项资金重点领域研发计划项目 (No. 2018B030320001)。

作者简介 谢德春 (1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 微生物学。*通信作者 (Corresponding author): 郝玉娥 (HAO Yu'e), E-mail: haohao200701@126.com; 张 明 (ZHANG Ming), E-mail: zhangming@gdim.cn。

糙孢腹菌属 (*Asperosporus* Karlsen-Ayala, Gazis & M.E. Sm.), 隶属于担子菌门 (Basidiomycota) 蘑菇纲 (Agaricomycetes) 蘑菇目 (Agaricales) 蘑菇科 (Agaricaceae), 是 2021 年报道于北美地区的一个蘑菇科新属, 其模式种为埋生糙孢腹菌 (*A. subterraneus* Karlsen-Ayala, Gazis & M.E. Sm.^[1])。糙孢腹菌属目前只包含这一个物种。该属的形态学特征为: 担子果不规则球形, 白色至淡棕色, 外包被膜状, 薄而易碎, 子实体受伤后迅速变红, 新鲜时子实体散发出浓烈的土腥味, 担孢子粗糙, 具锥形纹饰。随着分子生物学技术被广泛应用于分类学研究中, 不断有新的腹菌化类群被发现, 如杜瑞菌属 (*Durianella* Desjardin, A.W. Wilson & Manfr. Binder) 和海绵菌属 (*Spongiforma* Desjardin, Manfr. Binder, Roekring & Flegel) 等^[2-4], 同时还有一些基于形态学特征建立的腹菌化属被合并, 如鹅膏科中的大孢鹅膏属 (*Amarrendia* Bougher & T. Lebel) 和特伦德属 (*Torrendia* Bres.) 曾被作为独立的属处理^[5-6], 但分子系统学研究表明它们是鹅膏属 (*Amanita* Pers.) 成员腹菌化的结果^[7-8]; 克里比属 (*Cribbea* A.H. Sm. & D.A. Reid) 曾经被作为独立的属对待, 而分子系统学研究将其归并于小奥德蘑属 (*Oudemansiella* Speg.)^[9]。KARLSEN-AYALA^[1] 基于 LSU、*rpb2*、和 *tef1* 序列分析, 表明糙孢腹菌属是一个独立的属级分类单元, 隶属于蘑菇科, 与蘑菇属 (*Agaricus* L.) 和毛头伞属 (*Eriocybe* Vellinga) 亲缘关系较近。糙孢腹菌常被发现在苗圃园盆栽土壤中, 其菌丝会产生一层厚厚的疏水菌丝垫, 通过与有机物质结合, 阻止了植物对水和肥料的吸收, 从而导致植株萎蔫和萎黄^[1]。在广东东莞厚街无花果盆栽中发现一些球形担子菌, 经过形态鉴定与分子系统学研究, 证明其为埋生糙孢腹菌, 为中国新记录属种。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究标本于 2018 年 9 月 14 日采自广东省东莞市厚街无花果盆栽中, 标本号为 GDGM75266, 保存于广东省科学院微生物研究所真菌标本馆 (GDGM)。

1.2 方法

1.2.1 形态学观察 宏观形态特征描述源于新鲜标本的野外观察记录和子实体彩色图片。显微观

测具体操作如下: 用镊子或刀片对烘干后标本的观察部分的部分组织进行取样切片, 将取好的样品置于浮载剂 5% KOH 中, 可根据需要滴加 Melzer 液, 用光学显微镜 (Nikon C-HGFI, 日本尼康公司) 进行显微结构的观察与测量, 选取 20 个成熟的孢子进行测量, 以“a~b×c~d”, Q, Q_m 表示, 其中 a~b 和 c~d 分别表示孢子“长”、“宽”的最小和最大测量值, Q 表示长宽比, Q_m 表示长宽比的平均值。担孢子纹饰通过扫描电子显微镜 (HITACHI S-3000N, 日本日立公司) 进行观察。

1.2.2 分子系统学研究 取约 30 mg 烘干标本, 采用真菌 DNA 小量提取试剂盒 (广州 Magen 公司) 按照说明书方法提取基因组 DNA, 提取后的 DNA 置于 -20 °C 冰箱保存备用。ITS 序列片段扩增选用通用引物 ITS1 和 ITS4, 具体扩增反应体系及程序参照杨佩文等^[10]的方法。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 送往北京六合华大基因科技有限公司广州分公司进行测序。对获得的 ITS 序列峰图进行碱基核对以确保其准确性。对双向测序所得序列采用 Geneious 软件进行拼接, 并在 NCBI 网站上进行 Blast 比对, 参照比对结果, 选取同源性较高的可信序列构建序列矩阵, 然后用 Phylosuite 软件进行最大似然法 (Maximum Likelihood, ML) 分析, 选取茶色粘伞 [*Limacella delicata* (Fr.) Earle ex Konrad & Maubl.] 作为系统发育树外类群, 完成系统发育树的构建, 最终与形态学特征结合完成物种鉴定。

2 结果与分析

2.1 形态特征描述

担子果不规则球形, 直径 0.8~3.0 cm, 无菌柄, 外包被白色至灰白色, 稍皱, 薄, 干后易碎, 易与产孢组织分离, 在 Melzer 染液中呈深棕色至黑色; 新鲜子实体切开后产孢组织初期呈浅绿色, 随后变为粉红色, 干后变为深棕色 (图 1)。产孢组织为网状、肉质或胶黏质的菌髓板, 分隔成近球形或迷路状的小腔。新鲜子实体具浓烈的土腥味。担孢子 14~18 μm×11~16 μm, Q=1.08~1.33, Q_m=1.22, 厚壁 2~3 μm, 球形、近球形或椭圆形, 表面微皱, 有锥形棘, 棘高 1 μm, 棘之间明显分开, 在 5% KOH 溶液中呈橙褐色, 在 Melzer 染液中加深为深棕色, 孢子上常附着担子小梗残留物 (图 2)。担子附着 1~3 个孢子, 在成熟干燥的标本中难以发现。外包被由松散交织、有隔膜的、不

规则分枝的菌丝组成，菌丝直径 3~5 μm，偶有膨大到 7 μm，淡黄褐色。菌髓由形状不规则、膨胀的透明菌丝组成，菌丝直径 8~24 μm。锁状联合缺失。

生境：夏秋季群生于盆栽土壤中。

分布：中国，美国。

研究标本：广东省东莞市厚街镇一蘑菇爱好者的无花果盆栽中，2018 年 9 月 14 日，张明，王超群，GDGM 75266。

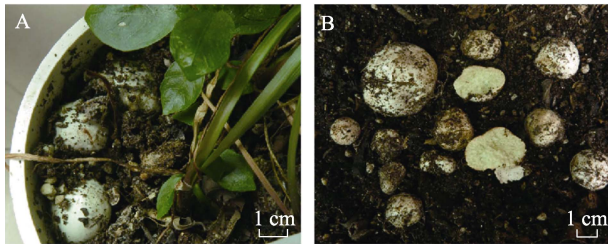
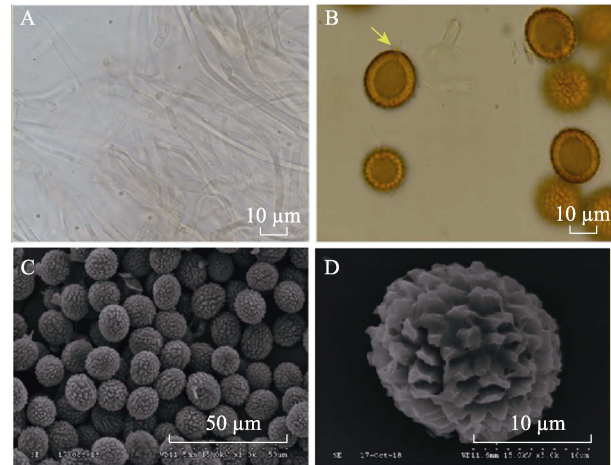


图 1 埋生糙孢腹菌的子实体
Fig. 1 Basidiocarp of *A. subterraneus*

2.2 系统发育分析

基于所获得的 ITS 序列经 BLAST 比对，结果显示，研究标本 (GDGM75266) 与 *A. subterraneus* 的模式标本序列 (MW775328) 最为相似，相似率达 99%。基于比对结果，选取了 42 条相近物种的 ITS 序列 (表 1)，构建了 ML 系统发育树，

如图 3 所示，研究标本 (GDGM75266) 与 *A. subterraneus* 聚为同一支，节点支持率为 100%，并与青褶伞属 (*Chlorophyllum* Masee) 和阿切尔芭芭拉属 (*Barcheria* T. Lebel) 相近，显示出具有较近的亲缘关系。



A: 外包被; B: 光学显微镜下的担孢子 (箭头示担子小梗残留物); C~D: 电子显微镜下的担孢子。

A: Exoperidium; B: Basidiospores under a light microscope (arrows indicate sterigma remnants); C~D: Basidia under electron microscope.

图 2 埋生糙孢腹菌的显微特征

Fig. 2 Microscopic characteristics of *A. subterraneus*

表 1 系统发育树构建所用标本信息及 GenBank 登录号

Tab. 1 Specimens information used for phylogenetic tree construction and the GenBank accession numbers

物种名 Species name	分布地 Locality	凭证标本 Voucher	GenBank 登录号 (ITS) GenBank accession No. (ITS)
<i>Agaricaceae</i> sp.	泰国	ecv3560	HM488752
<i>Agaricus biberi</i>	匈牙利	LAPAG687	KM657919
<i>Agaricus campestris</i>	-	LAPAG370	KM657927
<i>Agaricus erythrosarx</i>	-	H7638	JF495069
<i>Agaricus erythrosarx</i>	-	MURU6080	JF495068
<i>Agaricus linzhiensis</i>	中国	ZRL2012618	KT951378
<i>Agaricus melanosporus</i>	-	AD9763	JF495042
<i>Agaricus subrutilescens</i>	中国	ZRLWXH3276	KT951392
<i>Agaricus wariatodes</i>	-	TWM1589	JF495052
<i>Asperosporus subterraneus</i>	美国	FLAS-F-68001	MW775328
<i>Asperosporus subterraneus</i>	中国	GDGM75266	ON554795
<i>Barcheria willisiana</i>	澳大利亚	MEL2177563	JF495035
<i>Barcheria willisiana</i>	澳大利亚	MEL269353	JF495036
<i>Barcheria willisiana</i>	澳大利亚	-	JF495038
<i>Bovista altaica</i>	-	-	MH628583
<i>Calvatia gigantea</i>	-	-	MN508470
<i>Chamaemyces fracidus</i>	-	-	OL828777
<i>Chlorophyllum agaricoides</i>	中国	HMAS 71678	MG742004
<i>Chlorophyllum globosum</i>	南非	PREM 62147	MG742002

续表 1 系统发育树构建所用标本信息及 GenBank 登录号

Tab. 1 Specimens information used for phylogenetic tree construction and the GenBank accession numbers (continued)

物种名 Species name	分布地 Locality	凭证标本 Voucher	GenBank 登录号 (ITS) GenBank accession No. (ITS)
<i>Chlorophyllum molybdites</i>	美国	Z.W. Ge 3377	MG741992
<i>Clarkeinda trachodes</i>	泰国	ecv3550	HM488751
<i>Clarkeinda trachodes</i>	泰国	ecv3838	HM488750
<i>Coniolepiota spongodes</i>	泰国	png012	HM488756
<i>Coprinus comatus</i>	-	-	KX015766
<i>Endoptychum depressum</i>	美国	ecv2339	AF482834
<i>Eriocybe chionea</i>	泰国	ecv3616	HM488753
<i>Heinemannomyces splendidissima</i>	泰国	ecv3586	HM488760
<i>Hymenagaricus taiwanensis</i>	中国	C.M. Chen 3636	DQ490633
<i>Lepiota</i> aff. <i>fuscovinacea</i>	泰国	mflu 09-0129	HM488758
<i>Lepiota</i> cf. <i>fuscovinacea</i>	泰国	ecv3556	HM488759
<i>Lepiota omninoflava</i>	中国	HKAS 106734	MN810157
<i>Leucoagaricus americanus</i>	美国	ecv2454	AY176407
<i>Leucoagaricus meleagris</i>	荷兰	-	AY176419
<i>Leucocoprinus cepistipes</i>	美国	ecv3741	MN523275
<i>Limacella glioderma</i>	-	HBAU15533	MZ145070
<i>Lycoperdon pyriforme</i>	-	HBAU15533	AF479762
<i>Macrolepiota dolichaula</i>	中国	AFTOL-ID 481	DQ221111
<i>Macrolepiota turbinata</i>	澳大利亚	H0219	JF495076
<i>Microsalliota</i> sp.	-	-	MZ598496
<i>Podaxis pistillaris</i>	-	-	MK559667
<i>Tulostoma squamosum</i>	北欧	Mrazek1300	DQ415732
<i>Xanthagaricus siamensis</i>	泰国	MLFU 19-0576	MN176993
<i>Xanthagaricus taiwanensis</i>	中国	-	DQ006271

注: -为无相关信息; 加粗的登陆号为自测序列。

Note: - is no relevant information; The bold accession No. is the self-test sequence.

3 讨论

在形态上, 埋生糙孢腹菌与马勃科中的灰球菌属 (*Bovista* Pers.)、秃马勃属 (*Calvatia* Fr.) 和马勃属 (*Lycoperdon* Pers.) 相似, 但不同点在于后三者通常会产生地上子实体, 在切开时子实体通常不会发生红色的伤变色^[11-13]。基于 ITS 的系统发育分析显示, 埋生糙孢腹菌与上述 3 个腹菌属并没有显示出较近的亲缘关系, 而是与青褶伞属亲缘关系较近, 且埋生糙孢腹菌的产孢组织与青褶伞的菌褶在颜色上较为相似, 但不同点在于青褶伞有完整的菌盖、菌柄、菌环等结构, 孢子光滑, 无棘突状纹饰^[14-15]; 系统发育分析结果还显示, 埋生糙孢腹菌与阿切尔芭芭拉属 (*Barcheria* T. Lebel) 显示出较近的亲缘关系, 且二者在形态上均是腹菌化, 但不同点在于后者覆盖有紫褐色鳞片, 孢子光滑^[16]。KARLSEN-AYALA^[1] 基于 LSU、rpb2 和 tef1 片段的系统发育研究中,

显示埋生糙孢腹菌隶属于蘑菇科, 与蘑菇属 (*Agaricus* L.) 和毛头伞属 (*Eriocybe* Vellinga.) 亲缘关系较近。但在本研究中, 基于 ITS 片段的系统发育树显示, 埋生糙孢腹菌与青褶伞属显示出较近的亲缘关系, 形成姐妹群, 并得到较好的支持 (BS=89%)。

腹菌化现象是担子菌在演化进程中为适应特殊气候 (如干旱) 和传播媒介等因子, 大量无亲缘关系的类群出现了相似的结构^[17-19], 这种现象在广义的蘑菇科 (Agaricaceae) 中较为常见, 如马勃目 (Lycoperdales)、鸟巢菌目 (Nidulariales) 和柄灰包目 (Tulostomatales) 都是腹菌化引起的^[9]。基于形态学特征和 ITS 数据分析结果, 推测糙孢腹菌很有可能是青褶伞或蘑菇属物种在历史演化过程中为适应特殊的气候环境所产生的一种腹菌化现象, 但目前该类群仅有这一个物种被报道, 且仅发现于盆栽中, 其生长发育史尚不清楚, 还

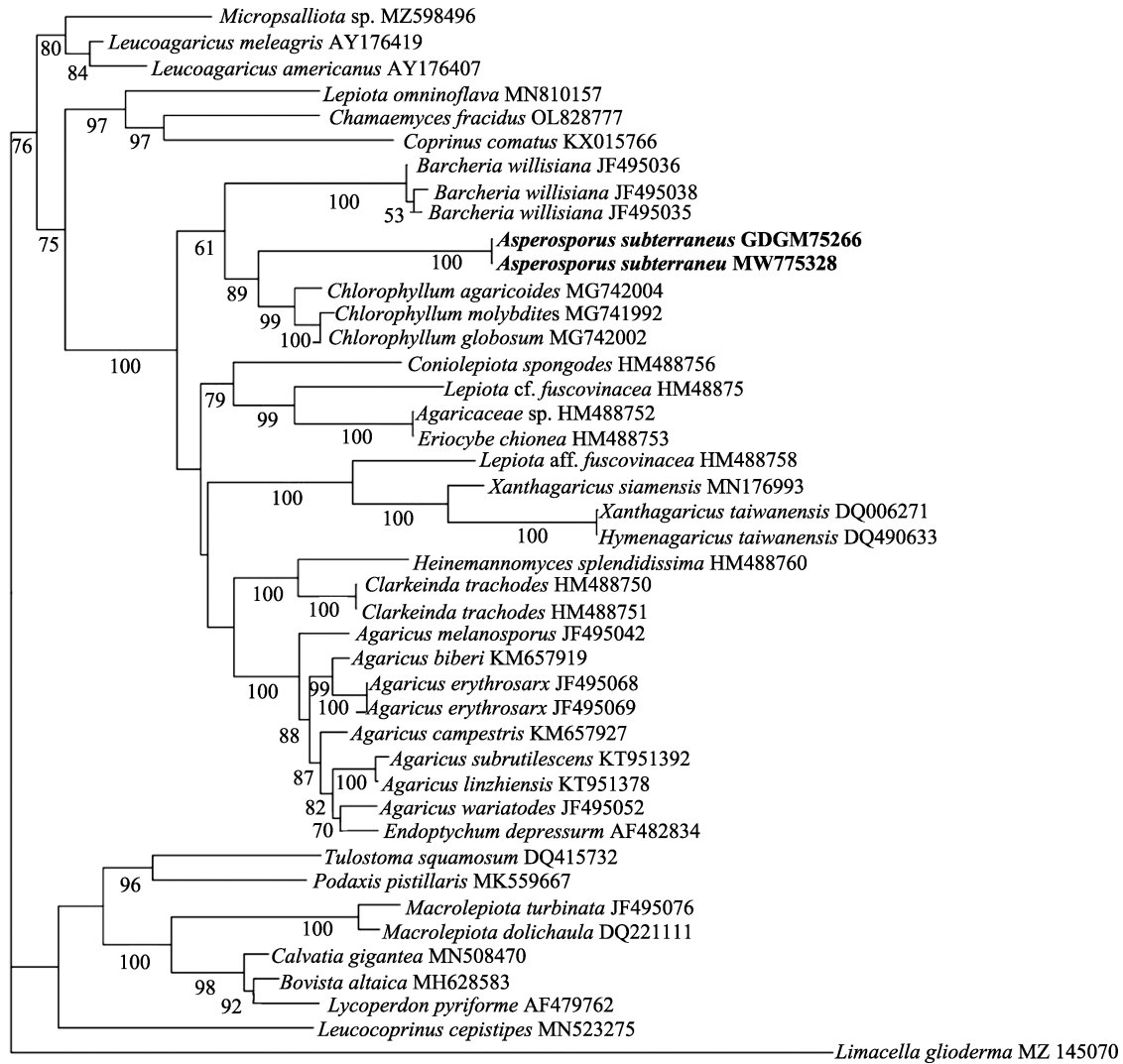


图 3 基于 ITS 序列构建的最大似然法系统发育树

Fig. 3 Maximum likelihood phylogenetic tree based on ITS sequences

需获得更多的标本数据来理解该属的发育与进化。这个属的发现为研究大型真菌起源与进化提供了宝贵的材料。

致谢 感谢周晴烽女士提供标本信息, 感谢石小隆先生在采样过程中提供的帮助。

参考文献

- [1] KARLSEN-AYALA E, GAZIS R, SMITH M E. *Asperosporus subterraneus*, a new genus and species of sequestrate Agaricaceae found in Florida nursery production[J]. Fungal Systematics and Evolution, 2021, 8: 91-100.
- [2] YANG Z L, TRAPPE J, BINDER M, SANMEE R, LUMYONG P, LUMYONG S. The sequestrate genus *Rhodactina* (Basidiomycota, Boletales) in northern Thailand[J]. Mycotaxon, 2006, 96: 133-140.
- [3] DESJARDIN D E, WILSON A W, BINDER M. *Durianella*, a new gasteroid genus of boletes from Malaysia[J]. Mycologia, 2008, 100(6): 956-961.
- [4] DESJARDIN D E, BINDER M, ROEKRING S, FLEGEL T. *Spongiforma*, a new genus of gasteroid boletes from Thailand[J]. Fungal Diversity, 2009, 37: 1-8.
- [5] BOUGHER N L, LEBEL T. Australasian sequestrate (truffle-like) fungi. XII. *Amarrendia* gen. nov.: an astipitate, sequestrate relative of *Torrendia* and *Amanita* (Amanitaceae) from Australia[J]. Australian Systematic Botany, 2002, 15(4): 513-525.
- [6] BOUGHER N L. New species of *Torrendia* (Fungi, Agaricales) from remnant woodlands in the wheatbelt region of western Australia[J]. Australian Systematic Botany, 1999, 12(1): 145-156.
- [7] JUSTO A, MORGENSTERN I, HALLEN-ADAMS H E, HIBBETT D S. Convergent evolution of sequestrate forms in *Amanita* under Mediterranean climate conditions[J]. My-

- cologia, 2010, 102(3): 675-688.
- [8] YANG Z L. Molecular techniques revolutionize knowledge of basidiomycete evolution[J]. Fungal Diversity, 2011, 50(1): 47-58.
- [9] LEBEL T, CATCHESIDE P S. The truffle genus *Cribbea* (Physalacriaceae, Agaricales) in Australia[J]. Australian Systematic Botany, 2009, 22(1): 39-55.
- [10] 杨佩文, 李家瑞, 杨勤忠, 曾莉, 王群. 根肿病菌核糖体基因 ITS 区段的克隆测序及其在检测中的应用[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(3): 6.
YANG P W, LI J R, YANG Q Z, ZENG L, WANG Q. Cloning and sequencing the Internal transcribed spacer of the ribosomal gene of plasmodiophora brassicae and applying it in detecting the pathogen[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2003, 18(3): 6. (in Chinese)
- [11] VELLINGA E C. Genera in the family Agaricaceae: evidence from *nrITS* and *nrLSU* sequences[J]. Mycological Research, 2004, 108(4): 354-377.
- [12] LARSSON E, JEPPSON M. Phylogenetic relationships among species and genera of Lycoperdaceae based on ITS and LSU sequence data from North European taxa[J]. Mycological Research, 2008, 112(1): 4-22.
- [13] JEPPSON M, LARSSON E, MARTÍN M P. *Lycoperdon rupicola* and *L. subumbrinum*: two new puffballs from Europe[J]. Mycological Progress, 2012, 11(4): 887-897.
- [14] 杨祝良. 绿褶托菇在我国首次发现[J]. 植物分类与资源学报, 1991, 13(3): 279-282.
YANG Z L. *Clarkeinda trachodes* an agaric new to China[J]. Plant Diversity, 1991, 13(3): 279-282. (in Chinese)
- [15] LOIZIDES M, ALVARADO P, POLEMIS E, DIMOU D M, ZERVAKIS G I, THINES M, TELLE S, KONSTANTINOOU G, GUBE M. Multiple evolutionary origins of sequestrate species in the agaricoid genus *Chlorophyllum*[J]. Cell Cycle, 2020, 112(2): 400-422.
- [16] LEBEL T, THOMPSON D K, UDOVICIC F. Description and affinities of a new sequestrate fungus, *Barcheria willisiana* gen. et sp. nov. (Agaricales) from Australia[J]. Mycological Research, 2004, 108(2): 206-213.
- [17] FRANZ O. Evolutionary trends in Basidiomycota[J]. Stapfia, 2012, 96: 45-104.
- [18] BINDER M, BRESINSKY A. Derivation of a polymorphic lineage of Gasteromycetes from boletoid ancestors[J]. Mycologia, 2002, 94(1): 85-98.
- [19] 杨祝良. 基因组学时代的真菌分类学: 机遇与挑战[J]. 菌物学报, 2013, 32(6): 16.
YANG Z L. Fungal taxonomy in the genomics era: opportunities and challenges[J]. Mycosystema, 2013, 32(6): 16. (in Chinese)