

曲霉科五个中国新记录种

刘畅^{1,2}, 庄文颖¹, 余知和², 曾昭清^{1,2*}

1 中国科学院微生物研究所 真菌学国家重点实验室, 北京 100101

2 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025

摘要: 对分离自海南和辽宁滩涂沉积物中的曲霉属和青霉属菌株进行系统分类研究, 报道 5 个中国新记录种: 假溜曲霉 *Aspergillus pseudotamarii*、乌尔米曲霉 *A. urmiensis*、南极青霉 *Penicillium antarcticum*、荒漠青霉 *P. desertorum* 和拉布拉多青霉 *P. labradorum*, 并提供了上述物种的形态特征描述及图示。同时, 联合 *BenA* 和 *CaM* 基因序列进行系统发育分析, 为形态学鉴定提供了佐证。研究结果丰富了我国该类真菌的物种多样性。

关键词: 青霉属; 曲霉属; 多相分类学; β -微管蛋白; 钙调蛋白; 滩涂沉积物

[引用本文]

刘畅, 庄文颖, 余知和, 曾昭清, 2023. 曲霉科五个中国新记录种. 菌物学报, 42(3): 835-848

Liu C, Zhuang WY, Yu ZH, Zeng ZQ, 2023. Five new records of Aspergillaceae (Ascomycota, Eurotiales) in China. Mycosystema, 42(3): 835-848

Five new records of Aspergillaceae (Ascomycota, Eurotiales) in China

LIU Chang^{1,2}, ZHUANG Wenying¹, YU Zhihe², ZENG Zhaoqing^{1,2*}

1 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 College of Life Sciences, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China

Abstract: Strains of *Aspergillus* and *Penicillium* isolated from tidal flat sediments in the provinces of Hainan and Liaoning were examined. Five species, namely, *Aspergillus pseudotamarii*, *A. urmiensis*, *Penicillium antarcticum*, *P. desertorum* and *P. labradorum*, are encountered and new to China. Their morphological descriptions and illustrations are provided

资助项目: 国家自然科学基金(31870012, 31750001); 科技部基础资源调查专项(2019FY100700); 中国科学院前沿科学重点研究项目(QYZDY-SSW-SMC029)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31870012, 31750001), the National Project on Scientific Groundwork, Ministry of Science and Technology of China (2019FY100700), and the Key Research Program of Frontier Science, Chinese Academy of Sciences (QYZDY-SSW-SMC029).

*Corresponding author. E-mail: zengzq@im.ac.cn

ORCID: LIU Chang (0000-0001-5869-6264), ZENG Zhaoqing (0000-0002-8460-7824)

Received: 2022-06-06; Accepted: 2022-06-20

based on observations of these strains. The taxonomic positions are confirmed by sequence analyses of the combined β -tubulin (*BenA*) and calmodulin (*CaM*) genes. The results enriched the species diversity of Aspergillaceae in China.

Keywords: *Aspergillus*; *Penicillium*; polyphasic taxonomy; BenA; CaM; tidal flat sediments

曲霉科 Aspergillaceae 建立于 1826 年, 主要包括曲霉属 *Aspergillus* P. Micheli 和青霉属 *Penicillium* Link 等 15 个属(Houbraken *et al.* 2020)。其中, 曲霉属和青霉属物种分布广泛(Houbraken *et al.* 2020; Wang & Zhuang 2022), 许多种类与人类生活密切相关。如烟曲霉 *A. fumigatus* Fresen. 和黄曲霉 *A. flavus* Link 是重要的致病菌, 可侵染植物导致霉变和腐烂, 也能感染人和畜禽(Frisvad & Larsen 2015; Solairaj *et al.* 2020); 米曲霉 *A. oryzae* (Ahlb.) Cohn 和酱油曲霉 *A. sojae* Sakag. & K. Yamada ex Murak. 常用于酿造(Sardjono *et al.* 1998; Kim *et al.* 2017); 产黄青霉 *P. chrysogenum* Thom 和灰黄青霉 *P. griseofulvum* Dierckx 等可产生抗生素及真菌毒素(Frisvad *et al.* 2004; Kuncic *et al.* 2012); 草酸青霉 *P. oxalicum* Currie & Thom 和橘灰青霉 *P. aurantiogriseum* Dierckx 等具生防潜力(Zhao *et al.* 2021; Yang *et al.* 2022)。由于上述二属具较高的物种多样性, 建立了属下分类系统(Samson *et al.* 2014; Visagie *et al.* 2014)。最新研究表明, 曲霉属包括 27 个组(section) 470 余种(Houbraken *et al.* 2020; Wang & Zhuang 2022)。青霉属共 32 个组 500 余种(Labuda *et al.* 2021; Liang *et al.* 2021; Rodríguez-Andrade *et al.* 2021; Visagie *et al.* 2021; Torres-Garcia *et al.* 2022)。本研究报道分离自我国海南和辽宁沿海滩涂沉积物中的曲霉属 *Flavi* 组和 *Flavipedes* 组、青霉属 *Canescentia* 组、*Chrysogena* 组和 *Exilicaulis* 组 5 个中国新记录种, 即假溜曲霉 *A. pseudotamarii* Yoko Ito, *et al.*、乌尔米曲霉 *A. urmiensis* Arzanlou, Houbraken & Samadi、南极青霉 *P. antarcticum* A.D. Hocking & C.F. McRae、荒漠青霉 *P. desertorum* Frisvad, Houbraken &

Samson 和拉布拉多青霉 *P. labradorum* Gibas, *et al.*。研究结果丰富了我国该类真菌的物种多样性。

1 材料与方法

1.1 样品采集和菌株分离

沉积物样品采集自我国海南和辽宁的沿海滩涂, 采用梯度稀释平板法(孟庆恒等 2007)和颗粒平板法(马艺源等 2020)进行真菌分离。分离菌株用培养基包括海水马铃薯葡萄糖培养基(sea salts-potato dextrose agar, ss-PDA)、海水麦芽浸膏培养基(sea salts-malt extract agar, ss-MEA)和海水合成低营养琼脂(sea salts-synthetic low nutrient agar, ss-SNA)(周静等 2012)(海盐 3%)。分离培养物和干标本分别保藏于中国普通微生物菌种保藏中心(China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC)和中国科学院微生物研究所菌物标本馆(Herbarium Mycologicum Academiae Sinicae, HMAS)。

1.2 形态学研究

菌落形态观察使用查氏酵母精琼脂(Czapek yeast autolysate agar, CYA)、麦芽精琼脂(malt extract agar, MEA)、马铃薯葡萄糖培养基(potato dextrose agar, PDA)和酵母膏蔗糖琼脂(yeast extract sucrose agar, YES)(Frisvad 1981; Samson *et al.* 2010)。接种方法、培养条件和显微结构观察、测量及形态描述参考 Samson *et al.* (2014) 和 Visagie *et al.* (2014) 的方法。

1.3 基因组 DNA 提取、PCR 扩增及序列测定

菌株 DNA 提取参考 Liu *et al.* (2022) 的方法。PCR 扩增片段包括微管蛋白基因(β -tubulin

gene, *BenA*, 约 400 bp)、钙调蛋白基因(calmodulin gene, *CaM*, 约 500 bp)和核糖体 DNA 内转录间隔区 1,2 和 5.8S 序列(nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer 1-5.8S-internal transcribed spacer 2 sequence, rDNA ITS1-5.8S-ITS2, ITS, 约 600 bp), 扩增引物见表 1, 扩增条件参照表 1 所列文献。PCR 产物送北京诺赛基因组研究中心有限公司纯化并进行双向测序。

1.4 系统发育分析

所获得的原始序列及网上下载的相关序列(表 2)通过 BioEdit 7.0.5 (Hall 1999)进行比对, 去除引物序列后进行拼接。生成的 FASTA 文件使用 ClustalX 2.1 转换为 nexus 文件(Thompson *et al.* 1997)。分别采用最大似然法(maximum likelihood, ML)和贝叶斯法(Bayesian inference, BI)进行系统发育分析。ML 分析使用默认 GTRCAT 模型通过 RaxML (Stamatakis 2006)进行, 采用随机增加分类群的方法计算最大简约支持率(maximum likelihood bootstrap support, MLBS)。BI 分析使用 MrBayes v. 3.2.5 (Ronquist *et al.* 2012), 通过 MrModeltest v. 2.3 (Nylander 2004)确定模型, 使用 Markov Chain Monte Carlo (MCMC)检索运算 100 万代; 忽略前 2 500 棵树, 从剩余的树中计算贝叶斯支持率(Bayesian inference posterior probability, BIPP)。分别以

Penicillium expansum Link 和 *Hamigera avellanea* Stolk & Samson 为外群构建曲霉属 2 个组以及以 *Aspergillus glaucus* (L.) Link 和 *H. avellanea* 为外群构建青霉属 3 个组的系统发育树。生成的系统发育树使用 TreeView v. 1.6.6 (Page 1996)或 FigTree v. 1.3.1 查看。

2 结果与分析

用于构建曲霉属系统发育树的矩阵包括曲霉属 *Flavi* 组和 *Flavipedes* 组的 23 个种 46 条序列, 共 822 bp (*BenA* 362 bp, *CaM* 460 bp)。以 *Penicillium expansum* 和 *Hamigera avellanea* 为外群使用最大似然法和贝叶斯法进行分析, BI 树见图 1, ML 树与 BI 树拓扑结构相似。结果显示, *Flavi* 组和 *Flavipedes* 组的成员分别位于不同分支。菌株 tt13807 和 tt30407 分别与假溜曲霉(CBS 766.97)和乌尔米曲霉(CBS 139558)的模式菌株聚类在一起(BIPP/MLBS=100%/99%; BIPP/MLBS=100%/100%)。

用于建立青霉属系统发育树的矩阵包括 *Canescentia* 组、*Chrysogena* 组和 *Exilicaulis* 组的 21 个种 42 条序列, 共 858 bp (*BenA* 371 bp, *CaM* 487 bp)。以 *A. glaucus* 和 *H. avellanea* 为外群使用最大似然法和贝叶斯法进行分析, BI 树见图 2, ML 树与 BI 树拓扑结构相似。结果显

表 1 用于系统发育分析的基因片段及其引物序列
Table 1 Primers and loci used for phylogenetic analysis

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'→3')	扩增片段 Amplified fragment	参考文献 Reference
T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	<i>BenA</i>	O'Donnell & Cigelnik 1997 Glass & Donaldson 1995
Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC		
Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC		
CMD5	CCGAGTACAAGGARGCCTTC	<i>CaM</i>	Hong <i>et al.</i> 2006 Peterson 2008
CMD6	CCGATRGAGGTCATRACGTGG		
CF1L	GCCGACTCTTTGACYGARGAR		
CF4	TTTYTGATCATRAGYTGGAC	ITS	White <i>et al.</i> 1990
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG		
ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG		
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		

表 2 本研究涉及的种、菌株及序列登录号

Table 2 List of species, strain number and GenBank accession number of materials used in this study

种名 Species	菌株号 Strain	GenBank 登录号 ITS	GenBank accession number <i>BenA</i>	GenBank accession number <i>CaM</i>
<i>Aspergillus arachidicola</i> Pildain, Frisvad & Samson	CBS 117610 ^T	MF668184	EF203158	EF202049
<i>A. ardalensis</i> A. Nováková, <i>et al.</i>	CCF 4031 ^T	FR733808	HG916683	HG916725
<i>A. caelatus</i> B.W. Horn	CBS 763.97 ^T	AF004930	EF661470	EF661522
<i>A. capensis</i> Visagie, Hirooka & Samson	CBS 138188 ^T	KJ775550	KJ775072	KJ775279
<i>A. flavipes</i> (Bainier & R. Sartory) Thom & Church	NRRL 302 ^T	EF669591	EU014085	EF669549
<i>A. glaucus</i> (L.) Link	CBS 516.65 ^T	EF652052	EF651887	EF651989
<i>A. iizukae</i> Sugiy.	CBS 541.69 ^T	EF669597	EU014086	EF669555
<i>A. krugeri</i> Visagie	PREM 62309 ^T	MK450655	MK451098	MK451517
<i>A. micronesiensis</i> Visagie, Hirooka & Samson	CBS 138183 ^T	KJ775548	KJ775085	KP987067
<i>A. mottae</i> Soares, <i>et al.</i>	CBS 130016 ^T	JF412767	HM803086	MG518058
<i>A. neoflavipes</i> Hubka, <i>et al.</i>	CBS 260.73 ^T	EF669614	EU014084	EF669572
<i>A. pseudocaelatus</i> Varga, Samson & Frisvad	CBS 117616 ^T	EF409242	MG517626	MG517995
<i>A. pseudotamarii</i>	CBS 766.97 ^T	AF272574	EF203125	EF202030
	CGMCC 3.26024	ON556557*	ON646035	ON646040
<i>A. sergii</i> P. Rodrigues, <i>et al.</i>	CBS 130017 ^T	JF412769	MG517688	MG518059
<i>A. subflavus</i> Hubka, <i>et al.</i>	CBS 143683 ^T	MH279429	MG517773	MG518143
<i>A. suttoniae</i> J.P.Z. Siqueira, <i>et al.</i>	FMR 13523 ^T	LT899487	LT899536	LT899589
<i>A. tamarii</i> Kita	CBS 104.13 ^T	AF004929	EF661474	EF661526
<i>A. templicola</i> Visagie, Hirooka & Samson	CBS 138181 ^T	KJ775545	KJ775092	KJ775394
<i>A. transmontanensis</i> P. Rodrigues, <i>et al.</i>	CBS 130015 ^T	JF412774	HM803101	HM803020
<i>A. urmiensis</i>	CBS 139558 ^T	KP987073	KP987041	KP987056
	CGMCC 3.26025	ON556559	ON646036	ON646041
<i>Hamigera avellanea</i> Stolk & Samson	CBS 295.48 ^T	AF454075	EU021664	EU021682
<i>Penicillium antarcticum</i>	CBS 100492 ^T	KJ834503	MN969371	MN969236
	CGMCC 3.26026	ON556560	ON646039	ON646044
<i>P. atrovenerum</i> G. Sm.	CBS 241.56 ^T	AF033492	JX140944	KJ867004
<i>P. confertum</i> (Frisvad, Filt. & Wicklow) Frisvad	CBS 171.87 ^T	JX997081	AY674373	JX996963
<i>P. coralligerum</i> Nicot & Pionnat	CBS 123.65 ^T	JN617667	MN969378	MN969248
<i>P. desertorum</i>	CBS 131543 ^T	JX997011	JX996818	JX996937
	CGMCC 3.26027	ON556561	ON646038	ON646043
<i>P. dipodomyus</i> (Frisvad, Filt. & Wicklow) Banke, Frisvad & S. Rosend.	CBS 110412 ^T	MN431359	AY495991	JX996950
<i>P. expansum</i> Link	CBS 325.48 ^T	AY373912	AY674400	DQ911134
<i>P. flavigenum</i> Frisvad & Samson	CBS 419.89 ^T	JX997105	AY495993	JX996281
<i>P. guttulosum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott	NRRL 907 ^T	HQ646592	HQ646576	HQ646587
<i>P. halotolerans</i> Frisvad, Houbraken & Samson	CBS 131537 ^T	JX997005	JX996816	JX996935
<i>P. labradorum</i>	CBS 145775 ^T	MK881918	MK887898	MK887899
	CGMCC 3.26028	ON556558	ON646037	ON646042
<i>P. menonorum</i> S.W. Peterson	NRRL 50410 ^T	HQ646591	HQ646573	HQ646584
<i>P. mononematosum</i> (Frisvad, Filt. & Wicklow) Frisvad	CBS 172.87 ^T	JX997082	AY495997	JX996964
<i>P. nalgiovense</i> Laxa	CBS 352.48 ^T	AY371617	KU896811	JX996974
<i>P. novae-zeelandiae</i> J.F.H. Beyma	CBS 137.41 ^T	JN617688	MN969390	MN969279
<i>P. nucicola</i> Visagie, Malloch & Seifert	CBS 140987 ^T	KT887860	KT887821	KT887782
<i>P. parvum</i> Raper & Fennell	CBS 359.48 ^T	AF033460	HQ646568	KF900173
<i>P. pimateouiense</i> S.W. Peterson	CBS 102479 ^T	AF037431	HQ646569	HQ646580
<i>P. rubidurum</i> Udagawa & Y. Horie	CBS 609.73 ^T	AF033462	HQ646574	HQ646585

*GenBank 登录号为粗体表示新提交序列; ^T 表示模式菌株*Numbers in boldface indicate newly submitted sequences; ^T means type strain.

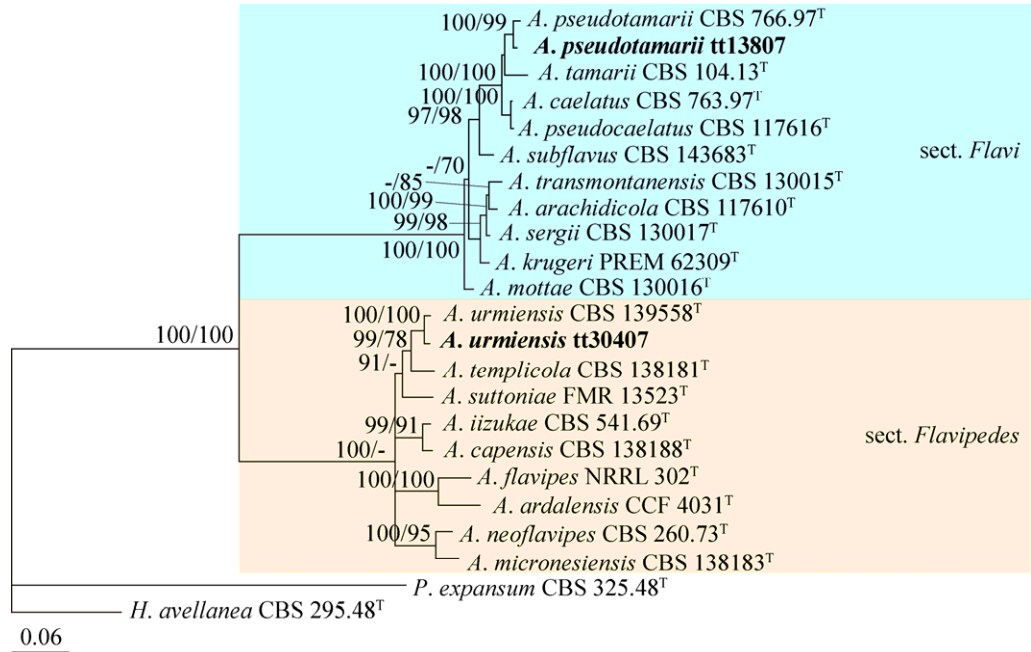


图 1 基于 *BenA*-*CaM* 构建的曲霉属 *Flavi* 组和 *Flavipedes* 组 BI 系统发育树 BIPP>90% (左)和 MLBS≥70% (右)标注于分支处，模式菌株用 ^T 标记，本研究分离菌株用粗体标记. 下同

Fig. 1 The BI tree based on *BenA*-*CaM* sequences of the sections *Flavi* and *Flavipedes* of *Aspergillus* species. BIPP≥90% (left) and MLBS≥70% (right) are indicated at the nodes, ex-type strains are indicated with ^T, newly isolated strains are indicated in boldface. The same below.

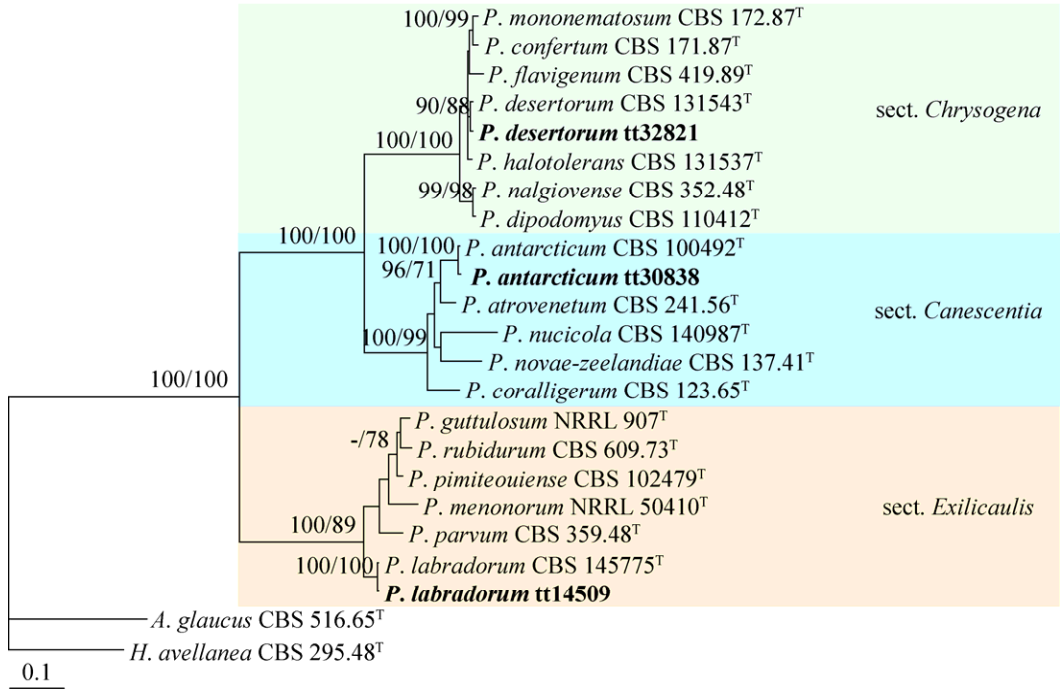


图 2 基于 *BenA*-*CaM* 构建的青霉属 *Canescentia* 组、*Chrysogena* 组和 *Exilicaulis* 组 BI 系统发育树

Fig. 2 The BI tree based on *BenA*-*CaM* sequences of the sections *Canescentia*, *Chrysogena* and *Exilicaulis* of *Penicillium* species.

示, *Canescentia* 组、*Chrysogena* 组和 *Exilicaulis* 组的成员分别位于 3 个分支。菌株 tt30838、tt32821 和 tt14509 分别与南极青霉(CBS 100492)、荒漠青霉(CBS 131543)和拉布拉多青霉(CBS 145775)的模式菌株形成聚类(BIPP/MLBS=100%/100%; BIPP/MLBS=90%/88%; BIPP/MLBS=100%/100%)。

2.1 假溜曲霉 图 3

Aspergillus pseudotamarii Yoko Ito, S.W. Peterson, Wicklow & T. Goto, Mycol. Res. 105(2): 237, 2001.

在 CYA 培养基上 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 29–32 mm, 中心脐状突出, 具较多不规则皱

纹; 质地丝绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 浅黄桔青色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面浅黄色至黄绿色, 中心部分黄褐色。5 °C 培养 7 d 不生长。37 °C 培养 7 d, 菌落直径 60–62 mm, 平坦, 放射状; 质地绒状兼颗粒状; 分生孢子结构大量, 暗黄绿色至暗黄橄榄色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面栗色至棕褐色。

在 MEA 培养基上 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 32–35 mm, 平坦; 质地丝绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较丰富, 黄绿色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄色, 中间黄褐色。

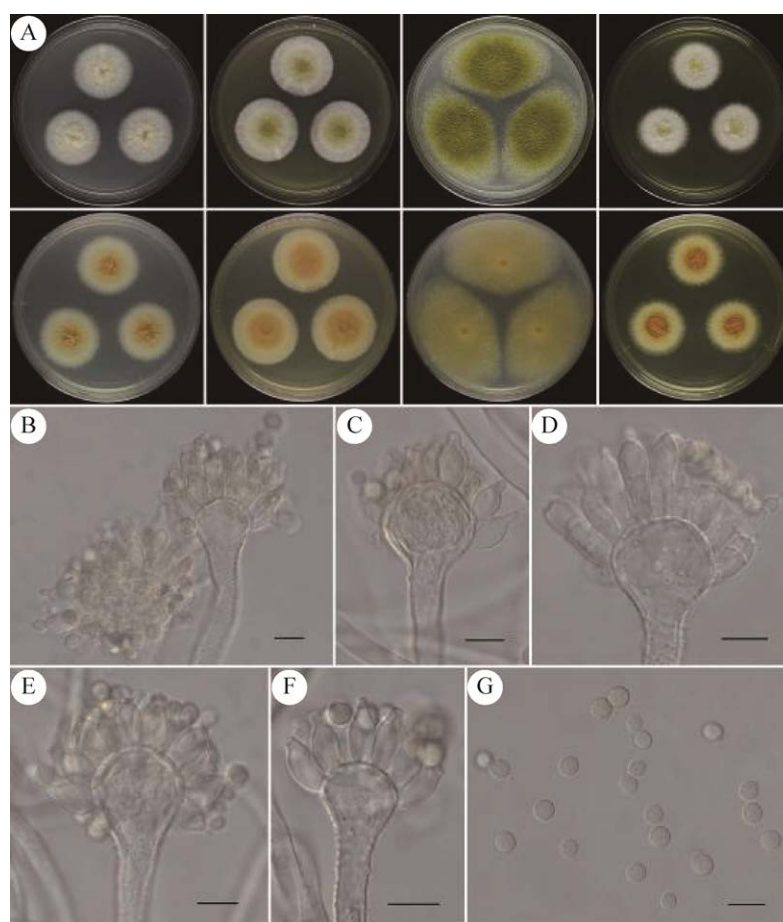


图 3 假溜曲霉 A: 25 °C 培养 7 d 的菌落形态(左到右依次为正面观 CYA、MEA、PDA 和 YES, 背面观 CYA、MEA、PDA 和 YES). B–F: 分生孢子梗和分生孢子. G: 分生孢子. 标尺=10 μm

Fig. 3 *Aspergillus pseudotamarii*. A: Colony morphology at 25 °C for 7 d (left to right, obverse CYA, MEA, PDA and YES; reverse CYA, MEA, PDA and YES). B–F: Conidiophores and conidia. G: Conidia. Bars=10 μm.

在 PDA 培养基上 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 56–58 mm, 平坦; 质地丝绒状兼颗粒状; 分生孢子结构大量, 暗黄绿色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄绿色。

在 YES 培养基上 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 27–29 mm, 中心略凹陷且有不规则环纹; 质地丝绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较丰富, 黄绿色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面白色至浅黄绿色, 中间部分栗色。

分生孢子头球形至辐射形; 分生孢子梗大多发生于基质, 孢梗茎壁粗糙或近于平滑; 顶囊球形至烧瓶形, 13.2–23.1×14.1–23.8 μm; 产孢结构双层, 梗基 5.9–10.9×4.1–6.9 μm, 覆盖大部分顶囊; 瓶梗 6.0–12.7×4.1–8.3 μm; 分生孢子球形至近球形, 少数椭圆形, 壁粗糙或近于平滑, 直径 3.9–5.7 μm。

菌株: 海南省儋州市墩头, 108°40′19″E, 19°09′06″N, 5–15 cm 泥滩沉积物, 2020.09.02, 朱海燕 tt13807=CGMCC 3.26024=HMAS 247859。

讨论: 假溜曲霉最初由 Ito *et al.* (2001) 发现于日本, 仅提供了菌株在察氏琼脂(Czapek-dox agar, CDA)和 MEA 培养基上的菌落形态。本研究增加曲霉鉴定常用的 CYA、PDA 和 YES 培养基的菌落描述。我国菌株在 MEA 上 7 d 的生长速度慢于模式菌株 NRRL 25517 (32–35 mm vs. 60–70 mm), 颜色存在一定差异(黄绿色 vs. 橄榄绿)。此外, 原始描述瓶梗较大(6.0–12.7×4.1–8.3 μm vs. 4.5–6.1×3.1–4.5 μm) (Ito *et al.* 2001)。我国菌株(CGMCC 3.26024)与模式菌株(CBS 766.97)的 ITS(557/557)序列完全一致, *BenA* 和 *CaM* 序列分别有 1 bp (446/447)和 4 bp (450/454)的差异, 本研究将其视为种内变异。

2.2 乌尔米曲霉 图 4

Aspergillus urmiensis Arzanlou, Houbaken & Samadi, in Arzanlou, Samadi, Frisvad, Houbaken & Ghosta, Mycol. Progr. 15: 1089, 2016.

在 CYA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径

25–27 mm, 中心略凹陷且有同心环纹, 有较多辐射状皱纹; 质地绒状至轻微絮状; 分生孢子结构较丰富, 黄色; 菌丝体白色至奶油色; 无渗出液; 可溶性色素呈黄色; 反面黄褐色至棕褐色。5 °C 培养 7 d 不生长。37 °C 培养 7 d, 菌落直径 26–28 mm, 中心脐状凸起, 有明显辐射状皱纹; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 浅黄色; 菌丝体黄色; 渗出液黄色至棕色; 无可溶性色素; 反面亮黄褐色至栗色。

在 MEA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 21–23 mm, 中心略凸起, 有不明显放射状皱纹; 质地绒状或轻微絮状兼颗粒状; 分生孢子结构大量, 黄色至卡其色; 菌丝体浅黄色; 无渗出液; 可溶性色素呈黄色; 反面黄褐色。

在 PDA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 24–25 mm, 平坦, 有放射状皱纹; 质地丝绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较丰富, 浅黄褐色; 菌丝体苍白色; 无渗出液; 可溶性色素呈黄色; 反面黄褐色至棕褐色。

在 YES 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 44–46 mm, 中心凸起, 有大量不规则皱纹; 质地绒状或絮状; 分生孢子结构较丰富, 淡黄色; 菌丝体边缘白色至黄色, 中间部分浅黄色至杏色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面亮黄褐色至栗色。

分生孢子头球形至辐射状; 分生孢子梗发生于基质或气生菌丝, 孢梗茎壁厚, 略带棕色, 平滑; 顶囊球形至近球形, 11.2–18.0×9.2–19.5 μm; 产孢结构双层, 梗基 4.7–7.5×2.2–4.4 μm, 覆盖大部分顶囊, 瓶梗 4.8–8.4×2.0–3.0 μm, 圆柱形; 分生孢子球形或近球形, 壁平滑, 直径 2.4–3.2 μm。

菌株: 辽宁省大连市石槽海滨浴场, 121°41′20″E, 38°52′1″N, 低潮带沉积物, 2020.10.12, 刘畅 tt30407=CGMCC 3.26025=HMAS 247860。

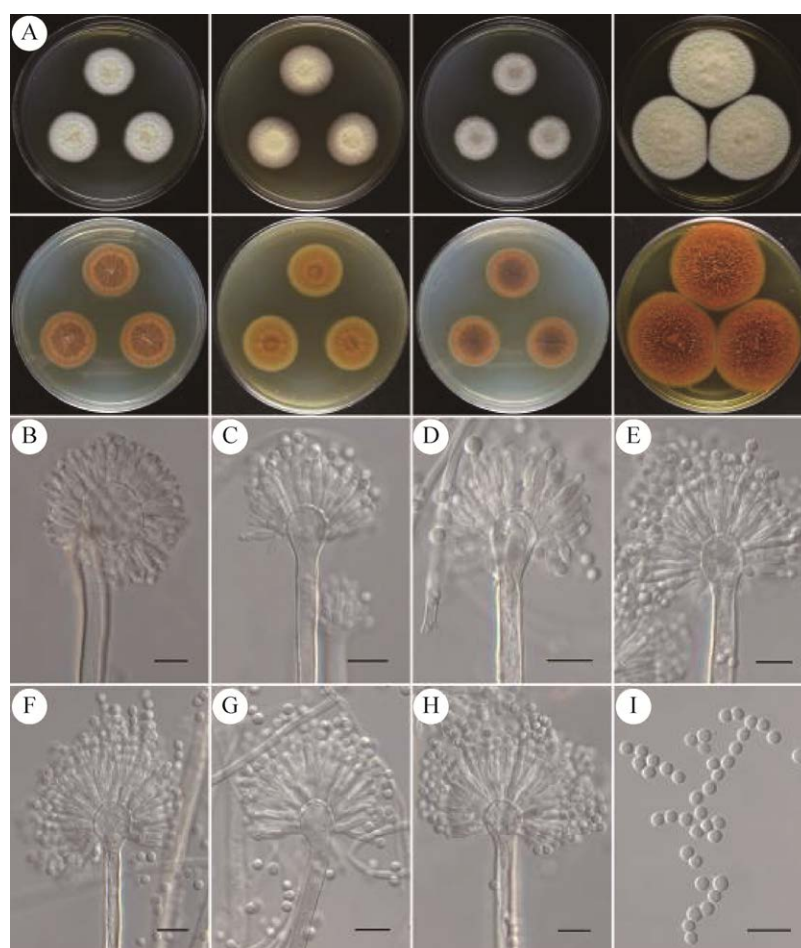


图4 乌尔米曲霉 A: 25 °C培养7 d的菌落形态(左到右依次为正面观 CYA、MEA、PDA 和 YES, 背面观 CYA、MEA、PDA 和 YES)。B-H: 分生孢子梗和分生孢子。I: 分生孢子。标尺=10 μm

Fig. 4 *Aspergillus urmiensis*. A: Colony morphology at 25 °C for 7 d (left to right, obverse CYA, MEA, PDA and YES; reverse CYA, MEA, PDA and YES). B-H: Conidiophores and conidia. I: Conidia. Bars=10 μm.

讨论: 该种在培养基上多呈白色、黄色至赭色, 孢梗茎浅棕色至棕色, 顶囊球形至近球形, 产孢结构双层, 分生孢子球状、平滑。系统发育分析结果显示, 该种与 *A. templicola* 的亲缘关系最近, 但前者产生球状顶囊, 后者具有长形顶囊。我国菌株的形态特征与伊朗的模式菌株基本一致, 仅在 CYA 和 MEA 培养基上的生长速率稍慢(25–27 mm vs. 28–32 mm、21–23 mm vs. 23–27 mm), 而在 YES 和 37 °C CYA 上生长较快(44–46 mm vs. 21–24 mm、26–28 mm vs. 21–23 mm) (Arzanlou *et al.* 2016)。我国菌株(CGMCC 3.26025)与模式菌株(CBS

139558)的 ITS (556/556)序列完全一致, *BenA* (490/494)和 *CaM* (543/548)序列分别相差 4 bp 和 5 bp, 上述差异被视为种内变异。

2.3 南极青霉 图5

Penicillium antarcticum A.D. Hocking & C.F. McRae, in McRae, Hocking & Seppelt, Polar Biol. 21(2): 103, 1999.

在 CYA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 33–35 mm, 平坦; 质地绒状兼粉末状或颗粒状; 分生孢子结构大量, 豆绿色至暗绿色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面浅黄色。CYA 培养基上, 在 5 °C、37 °C 培养 7 d 不生长。

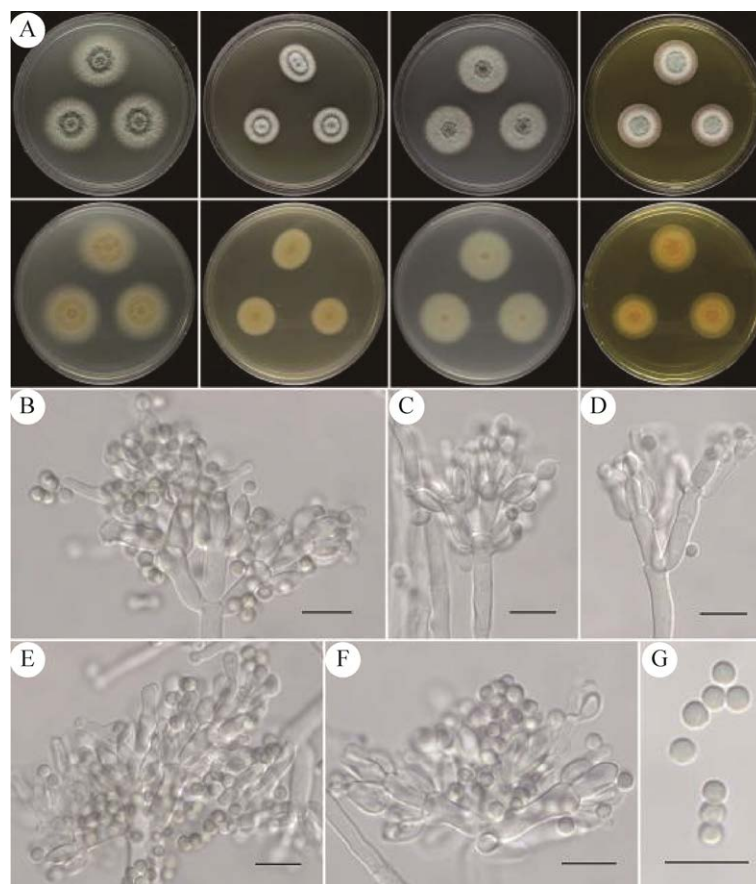


图5 南极青霉 A: 25 °C培养7 d的菌落形态(左到右依次为正面观CYA、MEA、PDA和YES, 背面观CYA、MEA、PDA和YES). B-F: 分生孢子梗和分生孢子. G: 分生孢子. 标尺=10 μm

Fig. 5 *Penicillium antarcticum*. A: Colony morphology at 25 °C for 7 d (left to right, obverse CYA, MEA, PDA and YES; reverse CYA, MEA, PDA and YES). B-F: Conidiophores and conidia. G: Conidia. Bars=10 μm.

在MEA培养基25 °C培养7 d, 菌落直径18–21 mm, 中心略凸起且有同心环纹; 质地丝绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较丰富, 草绿色; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄色。

在PDA培养基25 °C培养7 d, 菌落直径28–30 mm, 中心略凸起, 有同心环纹; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 灰绿色; 菌丝体浅灰绿色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面白色。

在YES培养基25 °C培养7 d, 菌落直径23–25 mm, 中心凸起; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 深豆绿色; 菌丝体白

色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面浅黄色至黄色。

分生孢子梗发生于基质, 孢梗茎壁平滑; 帚状枝两轮生, 少数三轮生, 彼此叉开; 梗基每轮2–5个, 7.0–19.0×3.1–5.9 μm; 瓶梗每轮3–5个, 安瓿状, 梗颈较短, 7.0–11.2(–14.4)×2.9–5.3 μm; 分生孢子球形至近球形, 绿色, 平滑, 直径2.2–3.7 μm。

菌株: 辽宁省大连市金州区城山头海滨地貌国家级自然保护区, 122°9′6″E, 39°9′16″N, 中潮带沙滩沉积物, 2020.10.12, 刘畅 tt30838=CGMCC 3.26026=HMAS 247861。

讨论: 该种由McRae *et al.* (1999)发现于南极

洲东部的土壤, 而我国菌株分离自温带的沙滩沉积物, 表明该种栖息地较广。二者仅在 MEA 上的生长速率存在一定差异(18–21 mm vs. 37–39 mm) (McRae *et al.* 1999)。我国菌株(CGMCC 3.26026)与模式菌株(CBS 100492)的 ITS (541/541)序列完全一致, *BenA* (433/434)和 *CaM* (495/496)序列分别仅存在 1 bp 的差异, 被处理为种内变异。

2.4 荒漠青霉 图 6

Penicillium desertorum Frisvad, Houbraken & Samson, in Houbraken, Frisvad, Seifert, Overy, Tuthill, Valdez & Samson, Stud. Mycol. 29: 90, 1986.

在 CYA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 14–16 mm, 中心略凹陷; 质地绒状或轻微絮

状; 分生孢子结构少量产生, 浅灰绿色; 菌丝体白色至浅灰绿色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄褐色。5 °C 培养 7 d 不生长。37 °C 培养 7 d, 菌落直径 11–14 mm, 菌落呈凸起状, 有大量不规则皱纹; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较少, 浅灰绿色; 菌丝体浅灰绿色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄色至黄褐色。

在 MEA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 16–18 mm, 中心略凹陷; 质地丝绒状或轻微絮状兼颗粒状; 分生孢子结构大量, 灰绿色; 菌丝体白色至浅灰绿色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄褐色至灰黑色。

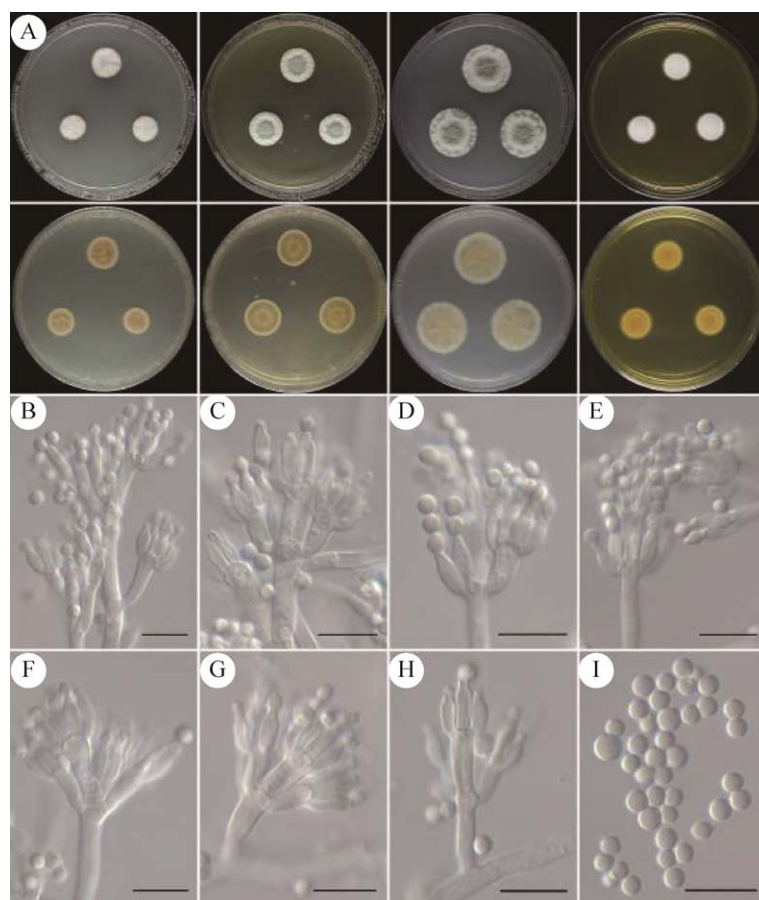


图 6 荒漠青霉 A: 25 °C 培养 7 d 的菌落形态(左到右依次为正面观 CYA、MEA、PDA 和 YES; 背面观 CYA、MEA、PDA 和 YES). B–H: 分生孢子梗和分生孢子. I: 分生孢子. 标尺=10 μm

Fig. 6 *Penicillium desertorum*. A: Colony morphology at 25 °C for 7 d (left to right, obverse CYA, MEA, PDA and YES; reverse CYA, MEA, PDA and YES). B–H: Conidiophores and conidia. I: Conidia. Bars=10 μm.

在 PDA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 25–26 mm, 平坦; 质地绒状或轻微絮状兼颗粒状; 分生孢子结构大量, 灰绿色至深豆绿色; 菌丝体白色至浅灰绿色; 渗出液透明; 无可溶性色素; 反面浅黄色。

在 YES 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 16–17 mm, 中心略凸起; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较少产生或无; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面浅黄色至黄色。

分生孢子梗发生于基质或气生菌丝, 孢梗茎壁平滑; 帚状枝两轮生或三轮生; 副枝 10.2–21.8×2.4–3.3 μm; 梗基每轮 1–4 个, 7.2–19.2×2.2–4.1 μm; 瓶梗安瓿形, 每轮 2–10 个, 4.9–11.4×2.2–3.0 μm; 分生孢子球形或近球形, 壁光、平滑, 直径 2.3–3.5 μm。

菌株: 辽宁省盘锦市兴隆台区, 121°46'39"E, 40°53'55"N, 表层红海滩沉积物, 2020.10.15, 刘畅 tt32821=CGMCC 3.26027=HMAS 247862。

讨论: 该种的模式菌株分离自美国怀俄明州荒漠, 而我国菌株分离于红海滩沉积物, 二者在生境以及在 CYA、MEA 和 YES 上的生长速率存在一定差异(14–16 mm vs. 20–37 mm、16–18 mm vs. 20–37 mm 和 16–17 mm vs. 37–55 mm)。此外, 在 CYA 培养基上 37 °C 培养 7 d, 我国菌株的菌落直径为 11–14 mm, 而美国菌株不生长(Houbraken *et al.* 2012)。我国菌株(CGMCC 3.26027)与模式菌株(CBS 131543)的 ITS (522/522)和 *CaM* (482/482)序列完全一致, 仅 *BenA* 序列存在 1 bp (435/436)的差异, 被视为种内变异。

2.5 拉布拉多青霉 图 7

Penicillium labradorum Gibas, Wiederh., C. Sanders, Rothacker, E.R. Rogers & Fales, in Rothacker, Jaffey, Rogers, Fales, Gibas, Wiederhold, Sanders, Mele, Fan, Cohn & Royal, Medical Mycology (Philadelphia) 58(8): 1061, 2020.

在 CYA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 15–16 mm, 菌落中心略凹陷, 具辐射状皱纹; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 黄色; 菌丝体白色; 无渗出液; 可溶性色素呈黄色至黄褐色; 反面深棕色。5 °C 培养 7 d 不生长。37 °C 培养 7 d, 菌落直径 24–25 mm, 中心略凹陷, 有大量辐射状皱纹; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 灰粉色; 菌丝体米白色至黄色; 渗出液大量, 红褐色至红黑色; 可溶性色素呈红褐色; 反面栗色或红褐色, 中间部分红黑色。

在 MEA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 12–13 mm, 菌落中心略凹陷; 质地丝绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 黄绿至灰绿色; 菌丝体白色; 渗出液黄色; 可溶性色素呈黄色; 反面黄褐色。

在 PDA 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 14–15 mm, 中心凸起; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构大量, 黄绿色至灰黄色; 菌丝体白色; 渗出液黄褐色; 可溶性色素呈黄色; 反面浅黄褐色。

在 YES 培养基 25 °C 培养 7 d, 菌落直径 11–12 mm, 菌落中心略凹陷; 质地绒状或轻微絮状; 分生孢子结构较少产生或无; 菌丝体白色; 无渗出液; 无可溶性色素; 反面黄褐色。

分生孢子梗发生于基质或气生菌丝, 孢梗茎壁粗糙或平滑; 帚状枝单轮生; 瓶梗每轮 2–4 个, 安瓿瓶形, 4.0–8.3×2.7–3.5 μm; 分生孢子球形或近球形, 壁明显粗糙, 直径 1.7–2.7 μm。

菌株: 海南省陵水黎族自治县陵水红树林国家湿地公园, 108°58'45"E, 18°25'37"N, 10–25 cm 红树林沉积物, 2020.09.03, 朱海燕 tt14509=CGMCC 3.26028=HMAS 247863。

讨论: 该种由 Rothacker *et al.* (2020)分离自美国染病的拉布拉多犬, 我国菌株来源于红树林沉积物, 二者的生境存在较大差异。

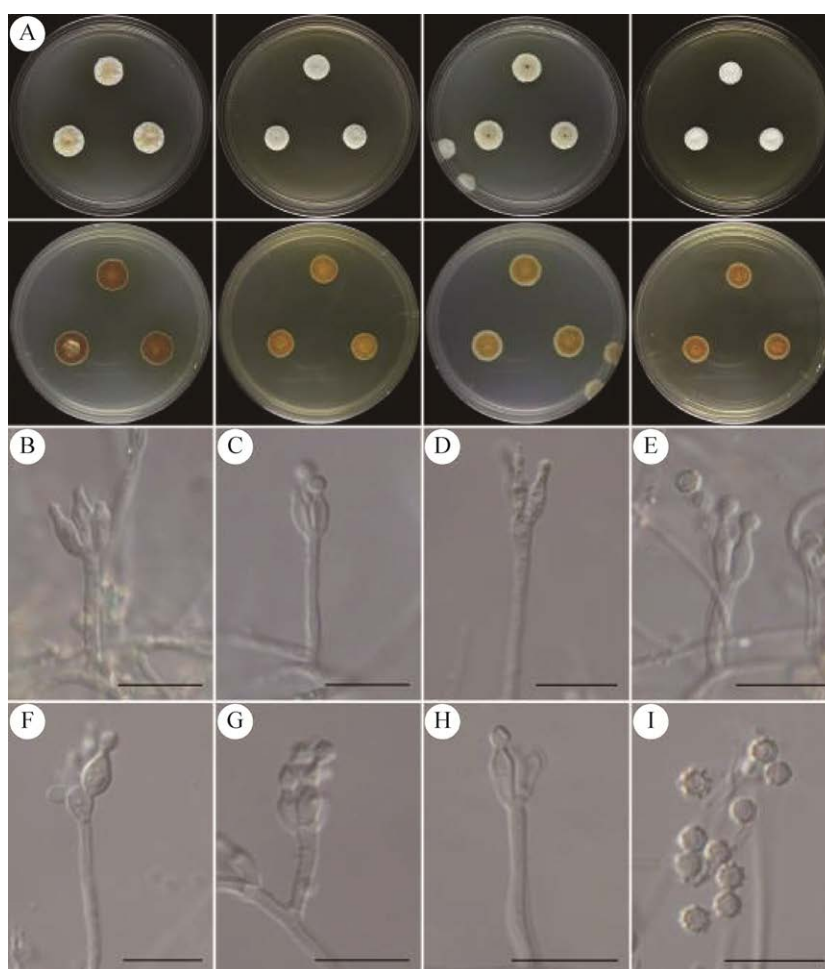


图7 拉布拉多青霉 A: 25 °C培养7 d的菌落形态(左到右依次为正面观CYA、MEA、PDA和YES, 背面观CYA、MEA、PDA和YES). B-H: 分生孢子梗和分生孢子. I: 分生孢子. 标尺=10 μm

Fig. 7 *Penicillium labradorum*. A: Colony morphology at 25 °C for 7 d (left to right, obverse CYA, MEA, PDA and YES; reverse CYA, MEA, PDA and YES). B-H: Conidiophores and conidia. I: Conidia. Bars=10 μm.

我国菌株在CYA培养基上生长速率较快(25 °C培养7 d菌落直径15–16 mm vs. 10–11 mm), 但在MEA和YES上生长较慢(25 °C培养7 d的菌落直径12–13 mm vs. 16–17 mm和11–12 mm vs. 15–16 mm)。此外, 菌落颜色也存在一定差异(CYA: 白色至黄色 vs. 淡奶油色至橄榄色、MEA: 黄绿至灰绿色 vs. 灰绿色到橄榄色、YES: 白色 vs. 黄灰橄榄色) (Rothacker *et al.* 2020)。我国菌株(CGMCC 3.26028)与模式菌株(CBS 145775)的 *BenA* 序列完全一致(401/401), ITS (534/535)和 *CaM* (510/511)序列分别仅相差1 bp, 被视为种内变异。

[REFERENCES]

- Arzanlou M, Samadi R, Frisvad JC, Houbraken J, Ghosta Y, 2016. Two novel *Aspergillus* species from hypersaline soils of The National Park of Lake Urmia, Iran. *Mycological Progress*, 15: 1081-1092
- Frisvad JC, 1981. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric penicillia. *Applied and Environmental Microbiology*, 41: 568-579
- Frisvad JC, Larsen TO, 2015. Extrolites of *Aspergillus fumigatus* and other pathogenic species in *Aspergillus* section *Fumigati*. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1485
- Frisvad JC, Smedsgaard J, Larsen TO, Samson RA, 2004. Mycotoxins and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 201-241

- Glass NL, Donaldson GC, 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 1323-1330
- Hall TA, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98
- Hong SB, Cho HS, Shin HD, Frisvad JC, Samson RA, 2006. Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 477-486
- Houbraken J, Frisvad JC, Seifert KA, Overby DP, Tuthill DM, Valdez JG, Samson RA, 2012. New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section *Chrysogena*. *Persoonia*, 29: 78-100
- Houbraken J, Kocsu   S, Visagie CM, Yilmaz N, Wang XC, Meijer M, Kraak B, Hubka V, Bensch K, Samson RA, Frisvad JC, 2020. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): an overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in Mycology*, 95: 5-169
- Ito Y, Peterson SW, Wicklow DT, Goto T, 2001. *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *Flavi*. *Mycological Research*, 105(2): 233-239
- Kim KM, Lim J, Lee JJ, Hurh BS, Lee I, 2017. Characterization of *Aspergillus sojae* isolated from meju, Korean traditional fermented soybean brick. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(2): 251-261
- Kuncic MK, Jaklic D, Lapanje A, Gunde-Cimerman N, 2012. Antibacterial and antimycotic activities of Slovenian honeys. *Journal of Biomedical Science*, 69(4): 154-158
- Labuda R, Bacher M, Rosenau T, Gasparotto E, Gratzl H, Doppler M, Sulyok M, Kub  tova A, Berger H, Cank K, Raja HA, Oberlies NH, Sch  ller C, Strauss J, 2021. Polyphasic approach utilized for the identification of two new toxigenic members of *Penicillium* section *Exilicaulis*, *P. krskae* and *P. silybi* spp. nov. *Journal of Fungi*, 7: e557
- Liang LJ, Jeewon R, Dhandevi P, Durairajan SSK, Li H, Lin FC, Wang HK, 2021. A novel species of *Penicillium* with inhibitory effects against *Pyricularia oryzae* and fungal pathogens inducing citrus diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10: e604504
- Liu C, Zhuang WY, Yu ZH, Zeng ZQ, 2022. Two new species of *Fusicolla* (Hypocreales) from China. *Phytotaxa*, 536(2): 165-174
- Ma YY, Zhang SM, Feng CH, Li W, 2020. Fungi isolated from deep-sea sediments of the Philippine Sea Basin and their adaptation to temperature and salinity. *Mycosystema*, 39(7): 1291-1300 (in Chinese)
- McRae CF, Hocking, AD, Seppelt RD, 1999. *Penicillium* species from terrestrial habitats in the Windmill islands, East Antarctica, including a new species, *Penicillium antarcticum*. *Polar Biology*, 21(2): 97-111
- Meng QH, Zhang H, Zhang J, 2007. Isolation and identification of marine fungi from Lujv river in Bohai-sea. *Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition)*, 1: 28-31 (in Chinese)
- Nylander JAA, 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. Uppsala. [<https://github.com/nylander/MrModeltest2/releases>]
- O'Donnell K, Cigelnik E, 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 7: 103-116
- Page RD, 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12: 357-358
- Peterson SW, 2008. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia*, 100: 205-226
- Rodr  guez-Andrade E, Stchigel AM, Cano-Lira JF, 2021. New xerophilic species of *Penicillium* from soil. *Journal of Fungi*, 7: e126
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Hohna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61: 539-542
- Rothacker T, Jaffey JA, Rogers ER, Fales WH, Gibas CFC, Wiederhold NP, Sanders C, Mele J, Fan H, Cohn LA, Royal A, 2020. Novel *Penicillium* species causing disseminated disease in a Labrador Retriever dog. *Medical Mycology*, 58(8): 1053-1063
- Samson RA, Houbraken J, Thrane U, 2010. Food and indoor fungi. CBS KNAW Biodiversity Center, Utrecht. 1-481
- Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CHW, Perrone G, Seifert KA, Susca A, Tanney JB, Varga J, Kocsu   S, Szigeti G, Yaguchi T, Frisvad JC, 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78: 141-173
- Sardjono, Zhu Y, Knol W, 1998. Comparison of fermentation profiles between lupine and soybean by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sojae* in solid-state culture systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8): 3376-3380
- Solairaj D, Legrand NNG, Yang QY, Zhang HY, 2020.

- Isolation of pathogenic fungi causing postharvest decay in table grapes and *in vivo* biocontrol activity of selected yeasts against them. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 110: 101478
- Stamatakis A, 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22: 2688-2690
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24): 4876-4882
- Torres-Garcia D, Gené J, García D, 2022. New and interesting species of *Penicillium* (Eurotiomycetes, Aspergillaceae) in freshwater sediments from Spain. *MycKeys*, 86: 103-145
- Visagie CM, Frisvad JC, Houbraken J, Visagie A, Samson RA, Jacobs K, 2021. A re-evaluation of *Penicillium* section *Canescentia*, including the description of five new species. *Persoonia*, 46: 163-187
- Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Hong SB, Klaassen CHW, Perrone G, Seifert KA, Varga J, Yaguchi T, Samson RA, 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78: 343-371
- Wang XC, Zhuang WY, 2022. New species of *Aspergillus* (Aspergillaceae) from tropical islands of China. *Journal of Fungi*, 8: 225
- White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, New York. 315-322
- Yang YC, Li K, Liu CX, Cheng F, Liu C, Quan WJ, Xue YH, Zou K, Liu SP, 2022. Sanxiapeptin, a linear pentapeptide from *Penicillium oxalicum*, inhibited the growth of citrus green mold. *Food Chemistry*, 366: 130541
- Zhao XB, Ni YX, Zhao H, Liu XT, He BP, Shi BB, Ma Q, Liu HY, 2021. Plant growth-promoting ability and control efficacy of *Penicillium aurantiogriseum* 44M-3 against sesame *Fusarium* wilt disease. *Biocontrol Science and Technology*, 31: 1-16
- Zhou J, Chen M, Li Y, Liu YZ, Wang CY, 2012. Secondary metabolites from a fungus *Peniophora* sp. isolated from a gorgonian *Echingorgia* sp. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 31(4): 8-13 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 马艺源, 张守梅, 冯春辉, 李伟, 2020. 菲律宾海盆沉积物可培养真菌及其温度、盐度适应性初步研究. *菌物学报*, 39(7): 1291-1300
- 孟庆恒, 张皓, 张晶, 2007. 渤海驴驹河水域海洋真菌的分离及初步鉴定. *天津师范大学学报(自然科学版)*, 1: 28-31
- 周静, 陈敏, 李筠, 刘云章, 王长云, 2012. 一株枝网刺柳珊瑚共附生真菌 *Peniophora* sp. 次级代谢产物研究. *中国海洋药物*, 31(4): 8-13