

## 中国长喙壳属三个新记录种

赵桂华<sup>1</sup>, 陈啸寅<sup>1</sup>, 李德伟<sup>2</sup>

(1. 江苏农林职业技术学院生物技术中心, 江苏 句容 212400; 2. 美国康涅狄格州农业研究所)

**摘要:**研究了变色松木上 *Ophiostoma* 属的 3 个分离株, 通过形态学比较和鉴定, 属于我国的 3 个新记录种: *Ophiostoma davidsonii*, *O. abietinum*, *O. franke-grosmanniae*。文中进行了形态学描述和近似种比较。

**关键词:**长喙壳属; 松木; 新记录种

**中图分类号:**S718.81 **文献标识码:**A

## New Record Species of *Ophiostoma* in China

ZHAO Gui-hua, CHEN Xiao-yin, LI De-wei

(1. Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong 212400, Jiangsu, China;

2. The Connecticut Agricultural Experiment Station, Valley Laboratory, USA)

**Abstract:** 3 isolates of the genus *Ophiostoma* on blue-stained pinewood were studied morphologically and identified. The results showed that these three new record species of *Ophiostoma* in China were: *Ophiostoma davidsonii*, *O. abietinum* and *O. franke-grosmanniae*.

**Key words:** *Ophiostoma*; pine wood; new Chinese records

对 *Ophiostoma piliferum* (Fries) H. & P. Sydow [≡ *Ceratostomella piliferum* (Fries) Fuckel; ≡ *Ceratostomella pilifera* (Fries) Winter; ≡ *Ceratocystis pilifera* (Fries) Moreau] 最初研究是从松木变色开始的<sup>[1]</sup>, 因为变色的木材影响产品美观, 降低实用价值, 最重要的还会降低木材的力学强度<sup>[2]</sup>, 影响纸浆造纸的质量<sup>[1]</sup>。在美国, Rumbold (1929)<sup>[3]</sup> 和 Davidson (1935)<sup>[4]</sup> 对由长喙壳引起的木材变色和变色菌作了深入研究和描述。Verrall (1939)<sup>[5]</sup> 评估了变色菌的重要性和季节性流行, 认为在美国南方, *Ceratocystis coerulescens* (Munch) Bakshi 是最重要的阔叶材变色菌, 而 *O. pilifera* 主要引起松木的变色。随着农林业和农副产品工业的不断扩大, 这些真菌的经济重要性更加明显<sup>[6,7]</sup>。

在针叶材上发现的长喙壳真菌, 大都属于长喙壳属 (*Ophiostoma*)。全世界已报道了 27 个种生长

在 7 种松木上<sup>[8]</sup>, Harrington 等人 (1998)<sup>[9]</sup> 报道了针叶材上的 7 个种, 其中 *Ceratocystis pinicola* 引起松木蓝变。一种长喙壳真菌可生长在一种以上的松木上, 如 *C. truncicola* 生长在 2 种松木 (美加红松 *Pinus resinosa* Ait., 北美乔松 *P. strobes* Linn.) 上, *Ophiostoma* (*Ceratocystis*) *europioides*, *Ophiostoma tenella* (≡ *Ceratocystis tenella*), *Ophiostoma nigrum* (≡ *Ceratocystis nigra*) 寄主有 3 种, 香脂冷杉 (*Abies balsamea* (L.) Mill.), 黑云杉 (*Picea mariana* (Mill.) Britton), 多脂松 (*Pinus resinosa* Ait.); 小蠹长喙壳 [*Ophiostoma ips* (Rumbold) Nannf.] 有 4 种寄主, 北美短叶松 (*Pinus banksiana* Lamb.), 多脂松 (*Pinus resinosa* Ait.), 北美乔松 (*P. strobes* Linn.), 欧洲赤松 (*P. sylvestris* L.)<sup>[10]</sup>。栎枯萎病菌 [*C. fagacearum* (Bretz) J. Hunt], 荷兰榆病菌 [*O. ulmi* (Buisman) Nannf.] 和小蠹长喙壳 (*O. ips*) 都与特

收稿日期: 2005-06-27

基金项目: 江苏农林职业技术学院科研基金, No. 2005-16

作者简介: 赵桂华 (1952—), 男, 山东费县人, 教授, 长期从事木材变色菌的研究。E-mail: zhao50050@sina.com

殊的昆虫传媒有密切关系,昆虫传播的真菌有它的专一性,认为在真菌和小蠹属(*Ips pini* Say, *I. gradicollis* Erichhoff)等昆虫之间也存在共生关系<sup>[6]</sup>。长喙壳可由松褐天牛(*Monochamus alternatus* Hope)传播,这在作者对松褐天牛的分离过程中普遍得到。

在我国,马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)上已记载过中国长喙壳(*Ceratocystis chinensis*)、小蠹长喙壳(*C. ips*)<sup>[8]</sup>、松生长喙壳(*Ophiostoma pinicola* Zhao)和木生长喙壳(*O. lignicola* Zhao)<sup>[13]</sup>。其中最易变色的速生树种是橡胶木(*Hevea brasiliensis* Muell.-Arg.)、马尾松和黑松(*Pinus thunbergii* Parl.)、泡桐(*Paulownia* spp.)、杨树(*Populus* spp.)的木材,木材变色现象南方比北方更加普遍、严重。目前木材的腐朽和变色是阻碍我国木材加工业发展的两大因素。

长喙壳真菌是多种植物的病原菌,也是木材变色的主要病原。但是我国对木材变色菌的研究,特别是长喙壳的分类报道甚少。本研究的目的是通过对我国变色松木上的长喙壳分离物的形态学比较,确定松木上长喙壳种类,为我国今后长喙壳病原菌的鉴定和木材蓝变的生产防治提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料来源

松木标本分别来自在江苏南京市汤山林场、六合县方山林场、句容市下蜀林场、浙江舟山因松材线虫而死亡的马尾松、黑松蓝变木材,以及在松褐天牛的虫道和蛹室壁上的长喙壳菌的子囊壳。

### 1.2 分离培养

#### 1.2.1 培养基

A. 在PDA培养基中在加硫酸镁( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )0.5 g,磷酸二氢钾( $KH_2PO_4$ )0.25 g。

B. MEA培养基:麦芽浸出物10 g,琼脂细菌营养素20 g,蒸馏水1 L。

1.2.2 组织分离 木材表面进行消毒后,取内部的变色木材,移到PDA培养基上,在27℃(RH90%)下培养,各分离60块组织。

1.2.3 子实体分离 用挑针挑取长喙壳真菌的子囊壳,在无菌水中洗3次以上,移到PDA培养基上,在27℃(RH90%)下培养,各分离40~50个子囊壳。

1.2.4 单孢分离 对生长特性和形态有差异的菌株,采用单孢分离法进行纯化,将单个子囊壳顶端的

子囊孢子团,放在灭菌水里进行充分震荡,使单个子囊孢子分散,在显微镜下每个视野5~10个子囊孢子,然后放入PDA培养基上,在27℃(RH90%)下培养,待单个菌落长出后,转移到试管中保存待用。

1.2.5 载玻片培养 在灭菌的载玻片上放少许MEA培养基和长喙壳分离株,接种后盖上灭菌的盖玻片,在27℃(RH90%)下培养,24 h后在Zeiss Axioskop显微镜下观察分生孢子的发育情况。

1.2.6 子囊孢子胶质鞘的测定 取成熟的子囊孢子,在玻片上滴入1%的乳酚油棉蓝,有胶质鞘的子囊孢子遇到乳酚油棉蓝后,子囊孢子变为深蓝色,孢子壁和胶质鞘仍为无色;反之,子囊孢子无胶质鞘。

## 2 结果

### 2.1 分离结果

采用组织分离法,在马尾松上长喙壳的出现率为34.5%,黑松上为24.3%,分离物形态各异。其它的分离物以球壳孢属(*Sphaeropsis* sp.)出现的较多。

用子囊壳直接分离时,只要在无菌水中洗的时间稍微长一些,一般不会出现细菌污染,分离得率达100%,这是获得长喙壳分离株最直接的方法。

### 2.2 种的鉴定

根据松木上所测定的各分离物菌落形态,子囊壳的大小,喙的长短,子囊孢子的大小,形状等特征,并与已被接受的长喙壳属真菌种进行形态比较、鉴定<sup>[6,8,10,11]</sup>,证明松木上的分离物属于我国的新记录种<sup>[8,11]</sup>。形态测量数据均取30个测量单位的平均数。现分别描述如下:

2.3 戴维森长喙壳 *Ophiostoma davidsonii* (Olchow. & Reid) Solheim, Nord. J. Bot. 6: 203, 1986, 新记录种

Syn. *Ceratocystis davidsonii* Olchow. & Reid, Can. J. Bot. 52: 1698, 1974

子囊壳在松褐天牛的虫道和蛹室内表生,在琼脂培养基上表生或半埋生;基部浅黄褐色,球形,直径60~90 μm,平均73×68 μm;颈暗褐色,直,近圆柱形,220~340 μm,平均290 μm,颈基部直径20~22.5(30) μm,平均21.5 μm,颈顶部直径10~15 μm,平均11.6 μm;孔口丝基部褐色,直径2.0~2.5 μm,顶部淡褐色,1.0~1.5 μm,长50~130 μm;当子囊成熟时,子囊壁胶化,故看不见子囊,只

看到子囊孢子;子囊孢子无色,单细胞,新月形,4~4.5×1.1~1.5 μm,有胶质鞘。

在培养基上菌落初为灰白色,3 d后菌落中间开始变为灰褐色,并产生大量的粘束孢属(*Graphium*)的分生孢子,分生孢子梗束生,有时为丛生,褐色,110~240×10~30 μm,分生孢子为瓶梗孢子,卵形或倒卵形,3.0~8.0×1.5~3.0 μm。

戴维森长喙壳的子囊壳类似于短颈长喙壳 [*Ophiostoma brevicolla* (Davidson) de Hoog & Scheffer] (= *Ceratocystis brevicollis* Davidson), *Ophiostoma olivaceum* Mathiesen (= *Ceratocystis olivacea* (Mathiesen) Hunt), 和 *Ophiostoma sagmatospora* (Wright & Cain) Solheim (= *Ceratocystis sagmatospora* Wright & Cain) 的子囊壳,戴维森长喙壳具有的弯曲、橘瓣状,胶质鞘厚度一致的子囊孢子,从形状上可很快区分戴维森长喙壳和其他的种<sup>[12,13]</sup>。

戴维森长喙壳的分生孢子阶段非常类似于 *Ophiostoma olivaceum* 的,分生孢子梗平行排列,形成束梗,在其上产生瓶梗和瓶梗孢子。但是,也不会与短颈长喙壳的分生孢子梗相混淆,因为短颈长喙壳的分生孢子梗基部为单生,顶端产生青霉状的分枝,分生孢子(合轴孢子)无色,单细胞。该真菌的无性阶段分别属于粘束孢属(*Graphium*)<sup>[12]</sup>, *Pesotum*<sup>[16]</sup>, 瓶壳霉属(*Phialographium*)<sup>[13]</sup>。

戴维森长喙壳与冷杉长喙壳(*O. abietinum*)相似之处是二者的子囊孢子都具有胶质鞘,但其他特征均有差异。与弗朗克长喙壳(*O. franke-grosmanniae*)子囊壳大小相似,子囊孢子具有胶质鞘,而不同点在于弗朗克长喙壳子囊壳较大,而孔口丝较短。

1971年,戴维森长喙壳在加拿大的花旗松 [*Pseudotsugae menziesii* (Mirbel) Franco] 上采集到<sup>[12]</sup>。在日本,该菌在被云山毛小蠹(*Dryocoetes hectographus* Reitter) 侵害过的富士山冷杉(*Abies veitchii* Lindl.) 上采集到<sup>[14]</sup>。

寄主:由松材线虫引起死亡的蓝变马尾松木材;测定分离物:ZS-252。

#### 2.4 冷杉长喙壳 *Ophiostoma abietinum* Marmolejo & Butin, Sydowia 42: 194, 1990, 新记录种

子囊壳在松褐天牛的虫道和蛹室内表生,或在琼脂培养基上表生或半埋生;基部黑色,球形,表面有褐色菌丝,直径90~130×90~130 μm,平均118.4×107.2 μm;颈黑色,直,或稍弯曲,圆柱形,450~630 μm,平均610 μm,颈基部直径20~30

μm,平均25 μm,颈顶部直径7.5~10.0 μm,平均9.5 μm;孔口丝3~6根,长12.5~15.0×2.5 μm;平均13.8×2.5 μm;当子囊成熟时,子囊壁胶化,故看不见子囊,只看到子囊孢子;子囊孢子无色,单细胞,橘瓣状,3.5~4.0×1.3 μm,平均3.9×1.1 μm,有胶质鞘。

在培养基上5 d后产生大量的发簇孢属(*Sporothrix*)的分生孢子,分生孢子梗直接从菌丝细胞顶端长出,有分隔或无,分生孢子梗顶端稍膨大,形成短的小突起,其上形成分生孢子。*S. schenckii* Hektoen & Perkins 引起人的孢子丝菌病<sup>[15]</sup>。

该种与中国长喙壳(*Ceratocystis chinensis* Zhao) 颈的长度相似,但二者在子囊壳和子囊孢子的大小和形状上都存在差异,中国长喙壳子囊壳141~205.6 μm,子囊孢子圆柱形5~6.4×2.7~3.7 μm,均与该种不同,生长在马尾松上<sup>[8]</sup>。与弗朗克长喙壳的子囊壳大小相似,但弗朗克长喙壳的颈短,而子囊孢子大。与戴维森长喙壳除了二者子囊孢子都具有胶质鞘外,其他特征具有差异。

寄主:由松材线虫引起死亡的蓝变马尾松木材;测定分离物:ZS-26。

#### 2.5 弗朗克长喙壳 *Ophiostoma franke-grosmanniae* (Davidson) de Hoog & Scheffer, Mycologia 76: 297, 1984, 新记录种

Syn. *Ceratocystis franke-grosmanniae* Davidson, Mycologia 63: 6, 1971

子囊壳在木材和培养基上表生和半埋生,黄褐色到暗褐色或黑色,基部球形,100~130(140)×100~120(~130) μm,平均114.8×110.4 μm;颈基部褐色至暗褐色,顶部淡灰色,光滑或粗糙,近圆柱形,250~300 μm,平均281.6 μm,颈基部50~55(~60) μm,平均52.2 μm,颈顶部15~20 μm,平均17 μm;孔口丝16~18根,基部淡褐色,顶部无色,20~45×1.5~2.0 μm,平均33.0×1.7 μm;侧面观察子囊孢子呈橘瓣状,正面观察呈椭圆形,有胶质鞘,4.0~5.5×1~1.3 μm,平均4.7×1.2 μm(包括胶质鞘)。

在22~25℃的PDA上生长较好,菌落初为白色,后变成浅灰色到深灰色,菌落中心颜色最深。产生瓶头孢属(*Phialocephala*)<sup>[16]</sup>分生孢子梗,直立,顶端分枝,产生瓶梗孢子(分生孢子),无色,单细胞,宽卵形,长椭圆形,球形到亚球形,5.0~7.5×1.6~2.5 μm。

该种与 *O. leptographioides* (Davidson) von Arx [≡ *Ceratocytophthora leptographioides* Davidson<sup>[17]</sup>, ≡ *Ceratocystis leptographioides* (Davidson) Hunt<sup>[18]</sup>] 很相似,也是出现在栎木 (*Quercus* sp.) 上,但是子囊壳的大小、颈的长短,生长特性,以及子囊壳和子囊孢子的发育二者均不同。弗朗克长喙壳颈的长度几乎是 *O. leptographioides* 颈长度的2倍。也与我国已报道的木生长喙壳虽在子囊壳的大小和颈的长短上有相似之处,但最主要的区别是在子囊孢子的形状和有无胶质鞘上。弗朗克长喙壳子囊壳瓣状,有胶质鞘;而木生长喙壳子囊孢子长方形,无胶质鞘<sup>[11]</sup>。与戴维森长喙壳的子囊孢子和颈长相似,而在子囊壳的大小和孔口丝长度上有较大差异。与冷杉长喙壳最主要的区别是颈的长度和子囊孢子的大小。

1967年,在德国弗朗克长喙壳分离株来自自由 *Hylecoetus dermestoides* 侵害栎树 (*Quercus* sp.) 上幼虫道的子囊壳<sup>[19]</sup>。

寄主:由松材线虫引起死亡的蓝变马尾松木材;  
测定分离物: Zs-12。

### 3 讨论

长喙壳大多数的种是多种植物,包括林木、果树和农作物上致病性强的病原菌。许多种在分类学上存在着混乱,随着对该属真菌研究的深入,采用PCR、测序等生物技术手段的快速、可靠方法,为长喙壳真菌种间快速鉴定提供了条件,也为分类学的发展奠定了基础<sup>[7]</sup>。

为了解松材线虫病木发生蓝变的原因,以及松材线虫和木材内生真菌之间的联系,从华东地区部分林场的松材线虫病木上分离到了10多种真菌,其中长喙壳出现最多,除了本文描述的新记录种外,还有小蠹长喙壳<sup>[8]</sup>,木生长喙壳<sup>[11]</sup>;其他引起木材变色的真菌如 *Lasiodilodia theobromae*, 柳生球壳孢 (*Sphaeropsis salicicola* Pass.), 聚生小穴壳菌 (*Dothiorella gregaria* Sacc.) 和小型大单孢 (*Haplosporella minor* Ell. & Barth.) 也普遍存在。分离培养过程中还发现,在木生长喙壳和环带头孢 (*Cephalosporium zonatum* Saw.) 的培养皿中出现了大量线虫,主要由于这两种真菌都能产生大量的分生孢子,供线虫食用。通过一系列的现象观察,松材线虫病中存在着松褐天牛、线虫、真菌和细菌,这四者之间在该病害

中的作用和它们之间的关系,有待进一步证实。

### 参考文献:

- [1] Findlay W P K. Sapstain of Timber [J]. For Abstr, 1959, 20(1): 1~7
- [2] Chapman A D, Scheffer T C. Effect of blue stain on specific gravity and strength of southern pine [J]. J Agric Res, 1940, 61: 125~133
- [3] Rumbold C T. Blue-stain fungi found in the United States [J]. Phytopathology, 1929, 19: 597~599
- [4] Davidson Ross W. Fungi causing stain in logs and lumber in the southern states, including five new species [J], Journal of Agricultural Research, 1935, 50(10): 789~807
- [5] Verrall A F. Relative importance and seasonal prevalence of wood-staining in the southern states [J]. Phytopathology, 1939, 29: 1031~1050
- [6] Wingfield M J, Seifert K A, Webber J F. *Ceratocystis* and *Ophiostoma* Taxonomy, Ecology and Pathogenicity [M]. APS Press, St. Paul. Minnesota, 1993, 1~293
- [7] Witthuhn R C, Wingfield B D, Wingfield M J, et al. PCR-based identification and phylogeny of species of *Ceratocystis sensu stricto* [J]. Mycol. Res. 1999, 103(6): 743~749
- [8] 赵桂华. 长喙壳属 (*Ceratocystis*) 的两个新种 [J]. 南京林业大学学报, 1992, 16(2): 81~86
- [9] Harrinton T C, Wingfield M J. *Ceratocystis* species of conifers [J]. Can J Bot, 1998, 76(8): 1446~1457
- [10] Griffin H D. The genus *Ceratocystis* in Ontario [J]. Can J Bot, 1968, 46: 689~714
- [11] 赵桂华. 马尾松蓝变木材上长喙壳属的两个新种 [J]. 南京林业大学学报, 2005(3): 113~117
- [12] Olchowechi A, Reid J. Taxonomy of the genus *Ceratocystis* in Manitoba [J]. Can J Bot, 1974, 52, 1657~1711
- [13] Upadhyay H P. A monograph of *Ceratocystis* and *Ceratocystiopsis* [M]. The University of Georgia Press, Athens, 1981, 1~174
- [14] Ohtaka N, Masuya H, Kaneko S, et al. Two *Ophiostoma* species associated with bark beetles in wave-regenerated *Abies veitchii* forests in Japan [J]. Mycoscience, 43, 151~157, 2002
- [15] 巴尼特 H L, 亨特 B B. 半知菌属图解 [M]. 沈崇尧译. 北京: 科学出版社, 1977: 96
- [16] Kendrick W B. The *Leptographium* complex. *Phialocephala* Gen. Nov. [J]. Can J Bot, 1961, 39: 1079~1085
- [17] Davidson R W. Some additional species of *Ceratostomella* in the United States [J]. Mycologia, 1942, 34: 650~662
- [18] Hunt J. Taxonomy of the genus *Ceratocystis* [J]. Lloydia, 1956, 19: 1~58
- [19] Hoog G S de, Scheffer R W. *Ceratocystis* versus *Ophiostoma*: reappraisal [J]. Mycologia, 1984, 76: 292~299