

文章编号: 1001-1498(2007)03-0415-08

葡萄座腔菌属 (*Botryosphaeria*) 系统分类评述

赵嘉平, 梁军, 吕全, 张星耀*

(中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林保护学重点实验室, 北京 100091)

摘要: 本文系统论述了葡萄座腔菌 (*Botryosphaeria* Ces & De Not) 及其无性型的系统分类现状。首先概述了 *Botryosphaeria* 真菌模式种的建立及无性型分类的演化过程, 主要介绍了 *Botryosphaeria* 真菌系统分类的一个重要观点: 即 *Botryosphaeria* 代表了两个不同的系统发育单元的集合, 其无性阶段可能分别对应于色二孢属 (*Diplodia*) 和壳梭孢属 (*Fusicoccum*)。同时介绍了真菌多无性型 (pleoanamorphy)、同等无性型 (synanamorphs) 概念和 *Fusicoccum* 真菌座腔壳砖隔孢属 (*Dichanera*) 同等无性型的主要特征。分析了一些重要有性型种, 如茶蔗子葡萄座腔菌 (*B. dothidea*), 多主葡萄座腔菌 (*B. ribis*), 贝伦格葡萄座腔菌 (*B. berengeriana*), *B. parva*, *B. lutea* 等之间的系统分类关系, 介绍了近年发现的 20 多个有性与无性型新种。其次介绍了主要的分子系统学研究方法并分析了其在 *Botryosphaeria* 真菌系统分类中的应用状况。最后通过分析与国外研究水平的差距, 讨论了今后我国重点研究的方向。

关键词: 葡萄座腔菌属; 色二孢属; 壳梭孢属

中图分类号: S718.81 文献标识码: A

Review on the Systemic Taxonomy of Genus *Botryosphaeria*

ZHAO Jia-ping, LIANG Jun, LU Quan, ZHANG Xing-yao

(Research Institute of Forestry Ecology, Environment and Protection, CAF; Key Laboratory of Forestry Protection, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: The paper reviewed the taxonomic status of genus *Botryosphaeria*, surveyed the most important anamorphic genera names which associated with genus *Botryosphaeria*, it was found that the *Diplodia* spp. and *Fusicoccum* spp. were the anamorphic fungi and *Dichanera* were the synanamorphic fungi of *Fusicoccum*. The phylogenetic relationship among some fungi, such as *B. dothidea*, *B. ribis*, *B. berengeriana*, *B. parva*, *B. lutea*, and other complex fungi was also introduced. This paper also listed more than 20 new anamorphic and teleomorphic species which reported in recently years. Some available taxonomic methods used in *Botryosphaeria* phylogenetic analysis were reported. Finally, by comparing the fungal study status in China and in the world, the aims and highlights of *Botryosphaeria* taxonomy were indicated.

Key words: *Botryosphaeria*; *Diplodia*; *Fusicoccum*

葡萄座腔菌属 (*Botryosphaeria* Ces & De Not) 是重要的植物病原真菌, 其种类繁多, 寄主类型多样, 病理特征差异较大。传统的真菌分类学研究主要依赖于有性型、无性型的形态学、培养学特征以及

病理特征、寄主类型等。但是 *Botryosphaeria* 属真菌可用于分类鉴定的有性形态特征较少, 并且其形态特征之间的差异较小, 这使得本属多数真菌的分类地位自发现以来就存在很多争议, 真菌名称及分类

收稿日期: 2006-05-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30271084) 资助

作者简介: 赵嘉平 (1970—), 男, 陕西富平人, 讲师, 博士生, 主林从事真菌系统发育及植物病理学研究。

* 通讯作者。

地位多次变更。更为重要的是, *Botryosphaeria* 属的有性型在实验室、自然界都难以得到, 其分类主要依据无性型形态学及培养学特征。而以前分类所依据的无性型形态特征却存在极大的分化与不确定性, 历史上曾有 18 个无性型名称与 *Botryosphaeria* 属相联系。由于 *Botryosphaeria* 属真菌的有性型与无性型缺乏严格的一对一的对应关系, 因而 *Botryosphaeria* 属系统分类一直存在较大的争议。

由 *Botryosphaeria* 及其相关无性型真菌引起的病害广泛分布于世界各地, 造成生态林木及经济林木生产的毁灭性后果, 如 *Botryosphaeria* 真菌在美国加利福尼亚的阿月浑子 (*Pistacia vera* L.), 澳大利亚及南非的桉树 (*Eucalypts* spp.), 橡树 (*Quercus* spp.) 等, 欧洲的葡萄 (*Vitis* spp.), 杨树 (*Populus* spp.) 以及中国、欧洲、北美的杨树、松树 (*Pinus* spp.), 中国、日本的苹果 (*Malus* spp.) 等多种树木上造成的溃疡、枯梢类病害已经成了制约这些林木生产的首要因素^[1-6]。吴小芹等^[7]从病理学出发论述了引起树木溃疡病、枝枯病或者花果枯萎腐烂的 18 个 *Botryosphaeria* 有性型种类, 但是没有说明无性型及与有性型的关系, 而且其中多种有性型种类并没有得到普遍的承认。王金利等^[8]对茶藨子葡萄座腔菌 (*B. dothidea*) 的七叶树壳梭孢 (*Fusicoccum aesculi* Corda) 和聚生小穴壳菌 (*Dothiorella gregaria* Sacc.) 的关系以及 *B. dothidea* 和多主葡萄座腔菌 (*B. ribis*) 的关系进行了说明。总的来说, 我国对该属真菌所致病害的病理学、流行病学以及防治策略等方面均有深入研究^[1,4,7,8], 而系统分类学研究则相对缺乏。为此, 本文收集了国内外大量文献资料对 *Botryosphaeria* 属系统分类研究进展进行评述, 供今后的研究者参考, 并讨论了今后我国应该重点研究的问题和方向。

1 *Botryosphaeria* 属研究进展

1.1 *Botryosphaeria* 属的建立

Cesati 和 De Notaris 于 1863 年描述了 *Botryosphaeria* Ces & De Not, 最初包含 12 个种, 没有提供种的详尽形态学描述, 同年 De Notaris 又加上另外 4 个种, 其中包括贝伦格葡萄座腔菌 (*B. berengeriana* De Not), 并配有详细描述与图示。但是在 Cesati 和 De Notaris 是否指定该属的模式种上却是说法不一, Crous 和 Palm^[9] 曾经根据 Johnson 在 1992 年的论述认为 Cesati 和 De Notaris 指定模式标本为 *B. dothidea* (Moug : Fr) Ces & De Not, 但是其

后否定了原来的看法^[10,11]。之后, 多个研究者对本属进行了广泛的修正, 重新进行描述, 并给出了检索表^[11-13]。*B. berengeriana* De Not 及松栎葡萄座腔菌 (*B. quercuum* (Schwein) Sacc) 曾被不同研究者建议作为本属选模式种^[11], 但因为其特征与原始描述不符, Barr^[14] 对这些建议予以拒绝, 而指定 *B. dothidea* (Moug : Fr) Ces & De Not (1863) 为选模式种, 之后这个观点逐渐被普遍接受^[11,12]。系统分类学研究显示, *B. dothidea* 的分生孢子及其形态学特征与修正后的 *F. aesculi* 的描述特征相一致^[9], 指定了 *B. dothidea* 的附加模式、新模式与合模式标本, *F. aesculi* 被确定为 *B. dothidea* 的无性型^[11-13]。

1.2 *Botryosphaeria* 真菌的无性型

自然及培养条件下, *Botryosphaeria* 真菌通常以无性孢子或无性阶段出现。几乎所有情况下, 分生孢子都在分生孢子器里产生, 但是无论在种间还是在种内, 分生孢子器的组织结构 (单腔或多腔) 以及分生孢子的颜色、形状、分隔等方面存在很大的变化。曾经认为的 *Botryosphaeria* 真菌的无性型名称有 18 个, 常见的有: 球二孢 (*Botryodiplodia* (Sacc) Sacc), 色二孢 (*Diplodia* Fr), 小穴壳 (*Dothiorella* Sacc), 壳梭孢 (*Fusicoccum* Corda), 毛色二孢 (*Lasiodiplodia* Ellis & Everh), 大茎点霉 (*Macrophoma* (Sacc) Berl & Vogl), 大拟茎点霉 (*Macrophomopsis* Petrak) 和球壳孢 (*Sphaeropsis* Sacc) 等^[15-18]。由于界定这些真菌的形态学特征极少被详细描述, 很长时间内这些无性型与 *Botryosphaeria* 的关系没有被准确界定, 这些多变的形式属的命名也没有为所有的研究者所接受。

上世纪 80 年代以来, *Botryosphaeria* 属无性型研究相继取得了进展。Sutton^[19] 将 *Macrophoma* 归为 *Sphaeropsis* 的同物异名。Pennycook 和 Samuels^[20] 说明 *Macrophomopsis* 是 *Fusicoccum* 的更晚的异名, 模式种 *M. coronillae* 和 *F. aesculi* 是同物异名。Denman^[21] 等将 *Lasiodiplodia* 作为一个同物异名包含在 *Diplodia* 内。Crous^[9] 等证明 *Botryodiplodia* 的模式种是一种子囊菌, 因此, 这一名词不能用于无性的腔孢纲 (Coelmycetes) 真菌。Crous 等^[9] 重新检查 *Dothiorella* 属模式标本仁果枝枯小穴壳菌 (*D. pyrenophora* (Berk) Sacc), 发现其分生孢子梗分枝分隔、全壁芽生产孢、分生孢子单隔、褐色、光滑、有疣状斑点, 这些特征都支持 *Dothiorella* Sacc 与 *Diplodia* Fr 是同物异名。Sutton^[19] 界定 *Sphaeropsis* 无性型的特

征是无隔、无色、产分生孢子细胞向顶式增殖等,然而更多研究发现这些特征代表的是 *Diplodia* 真菌发育和成熟之前的一个阶段。*Sphaeropsis* 真菌在成熟或释放之前,分生孢子颜色变深并出现隔膜,而向顶式增殖也同样发现于 *Diplodia* 菌株中^[21]。ITS 序列数据的系统发育分析也显示 *Diplodia* 和 *Sphaeropsis* 之间的区别不明显^[21,22]。因此,将 *Sphaeropsis* 与 *Diplodia* 区分开来是比较困难的,它们可以认为是同义词,习惯上使用更早一些的名称,即 *Diplodia*^[23]。

值得注意的是 *Fusicoccum* 与 *Diplodia* 之间的区别,*Diplodia* 类通常具有椭圆、宽大、厚壁、分隔及有色的分生孢子;*Fusicoccum* 类通常具有拟纺锤型、狭窄、薄壁、很少具有隔及有色的孢子^[22~24]。ITS 序列数据的系统发育分析显示 *Fusicoccum* 和 *Diplodia* 有明显的区别^[21,23]。最近,多基因联合系统发育分析表明 *Botryosphaeria* 属代表了两个不同的系统发育单元的集合,无性阶段分别对应于 *Diplodia* 和 *Fusicoccum* 真菌^[11]。

虽然 *Botryosphaeria* 属真菌的各种无性型的关系已经基本澄清并且得到越来越多的研究者的承认,但是随着真菌的形态学、培养学、系统发育的细节特征的发现,以及更多、更适宜的多基因序列数据的引入,不排除对于以上结论再进行修正的可能。而且,一些研究者仍然习惯采用旧的无性型名称,如 Draginja Pavlic^[25] 等以 *Lasiodiplodia* 无性型报道了新种 *L. gonubiensis* Pavlic, Slippers & M. J. Wing f. sp. nov.。

1.3 *Botryosphaeria* 真菌的多型性现象及 *Fusicoccum* 的 *Dichomera* 同等无性型

多型性 (pleomophy) 指一种真菌在其生活史中可以产生不止一种类型的孢子^[26],多无性型 (Pleoanamophy) 是指真菌根据形态学特征刻画为两个或两个以上的无性型,但是这些无性型在基因水平上具有同一性。产生不同类型无性孢子的无性型称为同等无性型 (synanamophs)。

座腔壳砖隔孢属 (*Dichomera* Cooke) 是一个相对较少研究的无性型,广泛分布于包括桉树 (*Eucalyptus* spp.) 在内的许多寄主植物上^[27],并造成多种植物病害,如:针叶树木芽枯病 (Conifer Buds Disease)^[28,29],美国梧桐 (*Sycamore* spp.) 树皮菱形溃疡 (Bark-diamond Canker)^[31],橡树 (*Quercus robur* L.) 嫩枝枯死 (Stem and Twig Lesions)^[31] 等。典型的 *Dichomera* 真菌具真子座型分生孢子体,砖格状分生

孢子,棕褐色,球形、梨形或圆柱形,在分隔处收缩或否,壁光滑,基部截距状。

Butin^[32] 发现橡树上的 *Fusicoccum*、*Dichomera*、皮生壳砖隔孢属 (*Camarosporium* Schulz)、*Dothiorella* 无性真菌的单孢子分离物在培养基上可以同时产生 *Dichomera* 型与 *Fusicoccum* 型分生孢子,但是根据 ITS 序列,这些真菌和 *Botryosphaeria* 真菌的 *Fusicoccum* 无性型聚合在一起;而来自于橡树的 *B. dothidea*, *B. parva*, *B. ribis* 和 *B. australis* 等 4 种真菌在培养下可以产生 *Dichomera* 型分生孢子。

虽然 *Dichomera* 和 *Fusicoccum* 的分生孢子产生方式相似,*Fusicoccum* 分生孢子形状与砖格、拉长的 *Dichomera* 孢子形状非常相似,但是 *Dichomera* 和 *Fusicoccum* 的孢子形状明显不同,始终可以相互区别,并且多数情况下相互之间独立出现。因此决定保留 *Dichomera* 作为 *Fusicoccum* 的同等无性型名称而不将之作为 *Fusicoccum* 的同物异名^[33]。

1.4 *Botryosphaeria* 真菌的有性型

早期的研究中,尽管标本之间有着明显的相似性,但当真菌出现在不同的寄主植物时,多数研究者更乐于根据寄主植物去描述新的 *Botryosphaeria* 种,而不是应用已有的名称,正如早期的真菌学研究者曾经做的那样^[34]。由此造成 *Botryosphaeria* 真菌有关的有性型名称很多,如 von Arx 和 Muller^[13] 就曾经根据有性型干标本,列举出了应该归于 *B. quercum* 和 *B. dothidea* 之下的大量同义种名。据不完全统计,至少报道了 200 个以上的不同种名,然而,现在普遍承认的种类并不多。《真菌字典》(第 8 版,第 9 版)记载为 12 个种,分别为:*B. corticis* (Demaree & Wilcox) Arx & E. Müll., *B. dothidea* (Moug.) Ces. & De Not., *B. mamane* D. E. Gardner, *B. obtuse* (Schwein.) Shoemaker, *B. parva* Pennycook & Samuels, *B. proteae* (Wakef.) Denman & Crous, *B. quercum* (Schwein.) Sacc., *B. modina* (Berk. & M. A. Curtis) Arx, Gen., *B. ribis* Grossenb. & Dugg., *B. stevensii* Shoemaker, *B. tsugae* A. Funk, *B. vaccinii* (Shear) M. E. Barr^[35,36]。

1.5 *Botryosphaeria* 属真菌的无性型与有性型新种

Botryosphaeria 属真菌是近来植物病理学与真菌系统分类学研究的热点。2000 年以来,有 20 多个无性型新种相继报道,至 2005 年,已经明确的 *Botryosphaeria* 有性型种为 23 个。同时一些 *Botryosphaeria* 真菌种的无性型与有性型之间的对应关系也相

继确定 (见表 1、表 2)。

表 1 Botryosphaeria属真菌无性型新种

无性型	有性型	寄主植物	病害类型	地区	参考文献
<i>F. eucalyptonum</i>	<i>B. eucalyptonum</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> spp.	溃疡、枯梢	南非	[3]
<i>F. eucalypticola</i>	<i>B. eucalypticola</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> spp.	溃疡	新西兰、葡萄牙	[37]
<i>F. viticlavatum</i>		葡萄树 <i>Vitis</i> spp.	芽枯死、枯梢、	南非、世界各地	[38]
<i>F. vitifusiforme</i>			褐斑病、		
<i>D. porosum</i>			蔓枯病		
<i>L. gonubiensis</i>		蒲桃 <i>Syzygium</i> spp.	溃疡、枯梢	南非	[25]
<i>D. scrobiculata</i>		松树 <i>Pinus</i> spp.	针叶病害	北美、欧洲	[39]
<i>F. arbuti</i>		太平洋玛都那木 <i>Arbutus menziesii</i>	溃疡	北美西部	[40]
<i>F. macroclavatum</i>		桉树 <i>Eucalyptus</i> spp.	溃疡	东澳大利亚	[41]
<i>D. rosulata</i>		镰叶罗汉松 <i>Podocarpus falcatus</i> 、非洲杏 <i>Prunus africana</i>	种子病害	埃塞俄比亚	[42]
<i>F. ribis</i>	<i>B. ribis</i>	多种寄主	溃疡等	世界各地	[10]

表 2 Botryosphaeria属真菌有性型新种

无性型	有性型	寄主植物	主要病害类型	地区	参考文献
<i>F. populi</i>	<i>B. populi</i>	杨树 <i>Populus</i> spp.	溃疡	葡萄牙	[43]
<i>F. eucalyptonum</i>	<i>B. eucalyptonum</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> spp.	溃疡、枯梢	南非	[3]
<i>F. luteum</i>	<i>B. lutea</i>	葡萄 <i>Vitis</i> spp.	溃疡、枯梢	葡萄牙	[21]
<i>F. proteanum</i>	<i>B. proteanum</i>	山龙眼科 Proteaceae植物	溃疡	澳大利亚、南非、葡萄牙等	[44]
<i>D. mutila</i>	<i>B. corticola</i>	橡树 <i>Quercus</i> spp.	枯梢、溃疡	西地中海地区	[45]
	<i>B. australis</i>	巨杉 <i>Sequoiadendron</i> sp.、贝克斯树 <i>Banksia</i> sp.、		澳大利亚、葡萄牙、	[46]
		桉树 <i>Eucalyptus</i> sp.、帕洛梯树 <i>Protea</i> sp.		西班牙、意大利、非洲	
<i>F. eucalypticola</i>	<i>B. eucalypticola</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> spp.	溃疡、枯梢	南非、东澳大利亚	[37]
<i>D. samantonum</i>	<i>B. samantonum</i>				
<i>Othia quercus</i>	<i>B. quercicola</i>				[11]
	<i>B. iberica</i>				
<i>Dothiorella</i> sp.	<i>B. viticola</i>				[47]

1.6 Botryosphaeria真菌主要种的系统关系

1.6.1 *B. dothidea*和 *B. ribis*的系统关系 *B. dothidea*和 *B. ribis*的系统关系长期不明, Grossenbacher和 Duggar^[34]首次分离并描述 *B. ribis*, 认为明显不同于 *B. dothidea*。但 von Arx等^[13]认为 *B. ribis*和 *B. dothidea*是同物异名, Wither^[48]等也持有同样的观点,但也有作者把二者看作两个独立的种^[19]。因二者的形态相似、测量数据重合,不能找到非常明显的形态特征用以区别,致使学名应用比较混乱,所以 Smith等^[49]将其称为 *B. dothidea*-*B. ribis*复合种(简称 D-R复合种)。

上世纪 90年代以后,国内外相继有研究者尝试从分子水平上区分 *B. dothidea*和 *B. ribis*。在对形态特征、培养特征及病原真菌致病性研究的基础上, RAPD等多种分子标记及 DNA 序列测定方法应用于真菌系统分类。结果显示葡萄座腔菌属不是一个单系类群, *B. dothidea*和 *B. ribis*有明显不同,所以 *B. dothidea*和 *B. ribis*是不同的分类学种,将 *Fusic-*

occum aesculi, *F. ribis* Slippers, Crous, M. J. Wingf, sp. nov. 分别确定为 *B. dothidea*, *B. ribis* 的无性型^[3, 23, 50, 51]。

1.6.2 *B. dothidea*, *B. ribis*和 *B. berengeriana*的系统关系 von Arx和 Muller^[12, 13]认为 *B. berengeriana*是 *B. dothidea*的异名,并提出 *B. ribis*是 *B. berengeriana* De Not 的异名,而 *B. berengeriana*是本属中的一个常见种。但 Sutton^[19]认为 *B. berengeriana*与 *B. dothidea*为同物异名。小金泽^[52]认为苹果干腐菌的菌名应以 *B. berengeriana* 取代 *B. ribis* 或 *B. dothidea*。根据 von Arx^[53]的观点, *B. dothidea*这个名称应该仅仅应用在玫瑰属 (*Rosa* L.) 的病原分离物上,而 *B. berengeriana* (包括 *B. ribis*) 是多物种寄生的。多基因序列分析显示 *B. dothidea*与 *B. ribis*不同, *B. berengeriana*可以保留作为 *B. dothidea*的异名^[11]。但是在这之前, *B. berengeriana*这个名称除在中国和日本之外的其它地区已经不常用了^[1, 54~56]。

1.6.3 *B. lutea*, *B. parva* 与 *B. dothidea*, *B. ribis* 的系统关系 2002 年, Phillips 等描述了新种 *B. lutea* A. J. L. Phillips, 其有性型在形态上与 *B. dothidea*, *B. ribis* 没有区别, 但可通过培养基上产生的黄色色素来区分: 在 15 和 25 °C 下, *B. lutea* 在生长初期分泌黄色色素, 后变为淡粉色, 然后消失, *B. ribis* 则分泌很深的黄色色素, 然后逐渐消失, 而 *B. dothidea* 不分泌黄色色素^[21]。

B. lutea 和 *B. dothidea*, *B. parva* 的区别在于 *B. lutea* 在燕麦琼脂培养基上产生单腔的分生孢子体, 而 *B. dothidea*, *B. parva* 的分生孢子体为多腔^[21]。Slippers 等^[46]发现, α -tubulin 和 EF1 α 序列系统发育分析显示 *B. ribis* 和 *B. parva* 亲缘关系很近, 但是仍可互相区分; 而且依据多基因分类数据认为可以从 *B. lutea* 中定义出一个新种 *B. australis* Slippers, Crous & M. J. Wingf., sp. nov.。

无论是分生孢子体还是子囊果, *B. parva* 都无法与 *B. dothidea* 相区别。*B. parva* 分生孢子的长宽比平均为 3.5, 而 *B. dothidea* 为 5.3, 亦即 *B. parva* 的分生孢子更短、更椭圆; 而且在燕麦琼脂培养基上 *B. parva* 能够产生比 *B. dothidea* 更大、更少的多腔分生孢子体^[21]。

1.6.4 *B. melanops*, *B. quercuum*, *B. stevensii* 的系统关系 von Arx^[13] 根据干标本上的有性型特征将 *B. melanops* 作为 *B. quercuum* 的异名。然而现在已经清楚, 这两种真菌有性型的差别非常小, 仅仅依据有性型特征并不足以相互区分, 因此, 将 *B. melanops* 作为 *B. quercuum* 的异名是不足为信的^[57]。

2005 年, Phillips 和 Pennycook^[57] 重新确定 *B. melanops* 是一个独立的种, 并且指定一个在 PDA 上的培养物作为新模式种。*B. melanops* 的显著特征是具长纺锤状分生孢子, 达 50 μm , 产分生孢子细胞窄、长, 环痕不明显, 产分生孢子细胞之间散布大量丝状、分枝状侧丝。

B. quercuum 和 *B. stevensii* 可以根据分生孢子形态区分, 分生孢子长宽比 1.5 为 *B. quercuum*, 2.3 为 *B. stevensii*。然而 *B. stevensii* 的一些菌株具有近圆形的分生孢子, 与此相应, Zhou 和 Stanosz 发现一些鉴定为 *B. stevensii* 的菌株却与 *B. quercuum* 聚类在一起^[24], 依据多基因分类数据, Slippers 等^[46] 也发现 *B. stevensii* 这个名字可能应用于不止一个分类种。因此, 预期 *B. stevensii* 将是以后 *Botryosphaeria* 真菌系统分类的一个重点。

2 *Botryosphaeria* 属真菌系统分类研究方法

Botryosphaeria 真菌形态学鉴定的主要依据是无性型的形态学特征, 如分生孢子与分生孢子体特征、分生孢子产生方式以及有性孢子、有性孢子器特征, 不同条件下的培养与生长特征^[11, 20, 22, 58], 生长速度、色素分泌等有时也是分种鉴定的有用特征^[11, 20, 21], 而真菌的生态地理特征、寄主类型、病原真菌的致病力等特征是分类鉴定辅助依据。

虽然形态学特征和培养特征为真菌分类鉴定提供了基础依据, 但是对于很多 *Botryosphaeria* 真菌来说, 仅仅依据这些特征并不足以对真菌做出符合其发育的系统分类。*Botryosphaeria* 属真菌的系统分类需要引入其他更为有效、稳定的技术手段和方法。RAPD, MP-PCR, ISSR, SSR, RFLP 等显性与共显性的分子标记可以区分真菌的不同分类单元^[24, 59, 60], 而氨基酸序列分析和核苷酸序列分析则可以提供更为精确有用的分类信息。rDNA 的 ITS 序列分析可以用于单纯形态学特征不能完成的真菌种属的鉴定^[10, 11, 61-64]。但是 DNA 单一保守区域序列分析有时并不能提供足够的有用信息, 这使得 ITS 数据通常不能有效判别紧密相关种或者模糊种之间的界线, 即这种单一基因序列分析的方法并不允许区分紧密相关的分类单元^[65]。采用同时引入多个不同的 DNA 保守性区域或基因进行系统发育分析, 不仅可以解决这个问题, 而且可以平衡不同基因之间由于进化速率不同而导致的与系统分类结果之间的偏差^[66]。

真菌多基因分类常用的基因或基因区域有: rDNA 的保守区域 (包括 ITS, SSU, LSU, 18S rDNA, 28S rDNA 基因等)、微管蛋白 (α -tubulin)、几丁质合酶 (chitin synthase)、延伸因子-1a (EF-1a)、肌动蛋白 (α -actin)、钙调蛋白 (calmodulin) 等。基于以上基因或者基因区域的多基因分类的方法已经应用于 *Botryosphaeria* 真菌的分类研究^[10, 11, 39]。准确地说, *Botryosphaeria* 真菌的系统分类研究之所以在自 1990 年以后迅速取得很大的进展, 这与以上分子生物学技术在分类学中的应用是紧密相关的, 无论是无性型 (同等无性型) 之间, 无性型与有性型之间, 还是有性型之间系统关系的确定, 都是分子生物学数据与形态学、培养学特征联合分析的结果。

3 讨论

我国对于 *Botryosphaeria* 真菌所致的树木病害 (杨树溃疡病、松树枯梢病、苹果和梨轮纹病、干腐病以及桃树流胶病等) 进行了广泛深入的研究, 而 *Botryosphaeria* 的系统分类研究较少。黄春燕等^[67] 确定苹果轮纹病病菌 *B. berengeriana* 种内存在的遗传分化现象, 张星耀等^[68~70] 确认 28S rDNA-RFLP 无法区分葡萄座腔菌属内种的差异, 只能鉴定到属, 利用 DNA 分子标记发现 *B. dothidea* 种内存在分化, 推论 *B. dothidea* 可能是由不同的分类学种构成的复合类群。王金利等^[51] 从形态学上证明 *B. dothidea* 与 *B. ribis* 不同, 树木溃疡病菌的无性型应该是 *F. aesculi* 而不是 *D. gregaria*。虽然分子标记方法可以显示不同分类单元内的遗传差异, 但是种的最终确定还是要利用更为精确的 DNA 序列数据。因此现阶段我国的 *Botryosphaeria* 真菌分类研究要引入多基因序列分析的方法, 将其结果和 DNA 数据库中的序列相比较, 以明确我国 *B. dothidea* 以及 *B. berengeriana* 种内分化的程度。借助分子生物学技术明确在我国主要的真菌无性型 *Dothiorella*、*Fusicoccum*、*Diplodia*、*Sphaeropsis* 等之间的关系以及主要有性型之间的关系。其次, 近年来报道的 *Botryosphaeria* 新种很多, 而我国拥有非常丰富的生物资源及多样化的气候与地理类型, 适应于多样化的环境状况, *Botryosphaeria* 真菌可能具有更为广泛的分布与遗传差异, 但是这方面的研究却一直缺乏, 因此, 应该加强对于我国 *Botryosphaeria* 真菌资源的系统研究, 发现可能的分类学新种或新的分布, 彻底了解 *Botryosphaeria* 的遗传分化和地理分化, 其结果必将为各种溃疡、枝枯类树木病害基于病原的病理、流行及控制技术研究提供坚实的基础。

参考文献:

- [1] 陈策. 苹果果实轮纹病研究进展 [J]. 植物病理学报, 1999, 29 (3): 193~198
- [2] Smith H, Wingfield M J, de Wet J, et al Genotypic diversity of *Sphaeropsis sapinea* from South Africa and Northern Sumatra [J]. Plant Dis, 2000, 84: 139~142
- [3] Smith H, Crous PW, Wingfield M J, et al *Botryosphaeria eucalyptorum* sp. nov., a new species in the *B. dothidea*-complex on *Eucalyptus* in South Africa [J]. Mycologia, 2001, 93 (2): 277~285
- [4] 张星耀, 骆有庆. 中国重大生物灾害 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2003
- [5] Ma Z, Michailides T J. Characterization of *Botryosphaeria dothidea* isolates collected from pistachio and other plant hosts in California [J]. Phytopathology, 2002, 92: 519~526
- [6] Phillips A J L. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal [J]. Phytopathologia Mediterranea, 2002, 41: 3~18
- [7] 吴小芹, 何月秋, 刘忠华. 葡萄座腔菌属所致树木溃疡病发生与研究进展 [J]. 南京林业大学学报, 2001, 25 (1): 61~66
- [8] 王金利, 秦国夫, 贺伟, 等. 葡萄座腔菌属及其相关真菌的系统学研究进展 [J]. 中国森林病虫, 2003, (3): 32~36
- [9] Crous PW, Palm M E. Reassessment of the *Botryosphaeria* anamorph genera *Fusicoccum*, *Dothiorella* and *Botryodiplodia* [J]. Sydowia, 1999, 51: 167~175
- [10] Slippers B, Crous PW, Denman S, et al Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several species previously identified as *Botryosphaeria dothidea* [J]. Mycologia, 2004, 96 (1): 83~101
- [11] Phillips A J L, Alves A, Correia A, et al Two new species of *Botryosphaeria* with brown, 1-septate ascospores and *Dothiorella* anamorphs [J]. Mycologia, 2005, 97 (2): 513~529
- [12] Arx J A von, M ðler E. A re-evaluation of the bitunicate ascomycetes with keys to families and genera [J]. Studies in Mycology, 1975, 9: 1~159
- [13] Arx J A von, M ðler E. Die Gattungen der aemosporen Pyrenomyceten [J]. Beitrage zur Kryptogamenflora der Schweiz, 1954, 11 (1): 1~434
- [14] Barr M E. Preliminary studies on the *Dothideales* in temperate north America [M]. Contributions from the University of Michigan Herbarium, 1972, 9: 523~638
- [15] Brown E A, Britton K O. *Botryosphaeria* Diseases of apple and peach in the southeastern United States [J]. Plant Disease, 1986, 70: 480~484
- [16] Farr D F, Bills G F, Chamuris G P, et al Fungi on plants and plant products in the United States [M]. Minnesota: APS Press, 1989
- [17] Sinclair W A., Lyon H H, Johnson W T. Diseases of trees and shrubs [M]. Cornell University Press Ithaca, N. Y., 1987
- [18] Sivanesan A. The Bitunicate *Ascomycetes* and their anamorphs [M]. J Cramer, 1984
- [19] Sutton B C. The *Coelomycetes* [M]. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute, 1980
- [20] Pennycook S R, Samuels G J. *Botryosphaeria* and *Fusicoccum* species associated with ripe fruit rot of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit) in New Zealand [J]. Mycotaxon, 1985, 24: 445~458
- [21] Phillips A J L, Fonseca F, Povo V, et al A reassessment of the anamorphic fungus *Fusicoccum luteum* and description of its teleomorph *Botryosphaeria lutea* sp. nov. [J]. Sydowia, 2002, 54: 59~77
- [22] Denman S, Crous PW, Taylor J W, et al An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria*, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny [J]. Studies in Mycology, 2000, 45: 129~140
- [23] Jacobs K A, Rehner S A. Comparison of cultural and morphological characters and ITS sequences in anamorphs of *Botryosphaeria* spe-

- cies and related taxa [J]. *Mycologia*, 1998, 90: 601 ~ 610
- [24] Zhou S, Stanosz G R. Relationships among *Botryosphaeria* species and associated anamorphic fungi inferred from the analysis of ITS and 5.8S rDNA sequences [J]. *Mycologia*, 2001, 93: 516 ~ 527
- [25] Pavlic D, Slippers B, Coutinho T A, et al. *Lasiodiplodia gonubiensis* sp. nov., a new *Botryosphaeria* anamorph from native *Syzygium cordatum* in South Africa [J]. *Studies in Mycology*, 2004, 50: 313 ~ 322
- [26] Sugiyama J. Pleomorphic Fungi: The Diversity and Its Taxonomic Implications [M]. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1987
- [27] Yuan ZQ, Wardlaw T, Mohammed C. A new species of *Dichanera* (Mitosporic fungus) described on eucalypt leaves from Tasmania, Australia [J]. *Nova Hedwigia*, 2000, 70: 139 ~ 142
- [28] Funk A, Sutton B C. A disease of conifer buds in western Canada associated with *Dichanera gemmicola* n. sp. [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1972, 50: 1 513 ~ 1 518
- [29] Yuan ZQ, Wang XW. A taxonomic study on fungi associated with spruce bud blight in China [J]. *Mycotaxon*, 1995, 53: 371 ~ 376
- [30] Bevercombe G P, Rayner A D M. *Dichanera saubinetii* and bark-diamond canker formation in *Sycamore* [J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1978, 71: 505 ~ 507
- [31] Sieber T N, Kowalski T, Holdenrieder O. Fungal assemblages in stem and twig lesions of *Quercus robur* in Switzerland [J]. *Mycol Res*, 1995, 99: 534 ~ 538
- [32] Butin H. Morphological adaptation and spore pleomorphism in the form complex *Dichanera-Camarosporium* and *Fusicoccum-Dothiorella* [J]. *Sydowia*, 1993, 45: 161 ~ 166
- [33] Barber P A, Burgess T J, Hardy G E St J, et al. *Botryosphaeria* species from *Eucalyptus* in Australia are pleoanamorphic, producing *Dichanera* synanamorphs in culture [J]. *Mycol Res*, 2005, 109 (12): 1 347 ~ 1 363
- [34] Grossenbacher J G, Duggar B M. A contribution to the life-history, parasitism and biology of *Botryosphaeria ribis* [J]. *New York Agricultural Experimental Station Technical Bulletin*, 1911, 18: 115 ~ 190
- [35] Hawksworth D L, Kirk P M, Sutton B C, et al. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi* (8th Edition) [M]. CAB International, 1995
- [36] Kirk P M, Cannon P F, David J C, et al. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi* (9th Edition) [M]. CAB International, 2001
- [37] Slippers B, Fourie G, Crous P W, et al. Speciation and distribution of *Botryosphaeria* spp. on native and introduced *Eucalyptus* trees in Australia and South Africa [J]. *Studies in Mycology*, 2004, 50: 343 ~ 358
- [38] Niekerk J M, Crous P W, Groenewald J Z, et al. DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines [J]. *Mycologia*, 2004, 96 (4): 781 ~ 798
- [39] Wet J de, Burgess T, Slippers B, et al. Multiple gene genealogies and microsatellite markers reflect relationships between morphotypes of *Sphaeropsis sapinea* and distinguish a new species of *Diplodia* [J]. *Mycol Res*, 2003, 107 (5): 557 ~ 566
- [40] Farr D F, Elliott M, Rossman A Y, et al. *Fusicoccum arbuti* sp. nov. causing cankers on Pacific madrone in western North America with notes on *Fusicoccum dimidiatum*, the correct name for *Scytalidium dimidiatum* and *Nattrassia mangiferae* [J]. *Mycologia*, 2005, 97 (3): 730 ~ 741
- [41] Burgess T, Barber P A, Hardy G E St J. *Botryosphaeria* spp. associated with *Eucalyptus* in Western Australia, including the description of *Fusicoccum macroclavatum* sp. nov. [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2005, 34 (4): 557 ~ 567
- [42] Gure A, Slippers B, Stenlid J. Seed-borne *Botryosphaeria* spp. from native *Pinus* and *Podocarpus* trees in Ethiopia, with a description of the anamorph *Diplodia rosulata* sp. nov. [J]. *Mycol Res*, 2005, 109 (9): 1 005 ~ 1 014
- [43] Phillips A J L. *Botryosphaeria populi* sp. nov. and its *Fusicoccum* anamorph from poplar trees in Portugal [J]. *Mycotaxon*, 2000, 76: 135 ~ 140
- [44] Denman S, Crous P W, Groenewald J Z, et al. Circumscription of *Botryosphaeria* species associated with *Proteaceae* based on morphology and DNA sequence data [J]. *Mycologia*, 2003, 95: 294 ~ 307
- [45] Alves A, Correia A, Luque J, et al. *Botryosphaeria corticola*, sp. nov. on *Quercus* species, with notes and description of *Botryosphaeria stevensii* and its anamorph, *Diplodia mutila* [J]. *Mycologia*, 2004, 96 (3): 598 ~ 613
- [46] Slippers B, Fourie G, Crous P W, et al. Multiple gene sequences delimit *Botryosphaeria australis* sp. nov. from *B. lutea* [J]. *Mycologia*, 2004, 96 (5): 1 030 ~ 1 041
- [47] Luque J, Martos S. *Botryosphaeria viticola* sp. nov. on grapevines: a new species with a *Dothiorella* anamorph [J]. *Mycologia*, 2005, 97 (5): 1 111 ~ 1 121
- [48] Wichter W, Clayton N. Blueberry stem blight caused by *Botryosphaeria dothidea* [J]. *Phytopathology*, 1963, 53: 705 ~ 712
- [49] Smith D R. Heterogeneity among isolates of the *Botryosphaeria dothidea*-*B. ribis* complex is indicated by RAPD marker analysis [J]. *Phytopathology*, 1997, 87: S91
- [50] Zhou S, Smith D R, Stanosz G R, et al. Differentiation of *Botryosphaeria* species and related anamorphic fungi using inter simple or short sequence repeat (ISSR) fingerprinting [J]. *Mycological Research*, 2001, 105 (8): 919 ~ 926
- [51] 王金利, 贺伟, 秦国夫, 等. 树木溃疡病重要病原葡萄座腔菌属种及其无性型研究 [J]. *林业科学研究*, 2007, 21 (2): 21 ~ 28
- [52] 小金泽硕城, 佐九间勉. 果树实验场报告 [R]. C11, 1984: 49 ~ 62
- [53] Arx J A von. Plant pathogenic fungi [M]. *Behefte zur Nova Hedwigia*, 1987, 87: 288
- [54] Sassa T, Ishizaki A, Nukina M, et al. Isolation and identification of new antifungal macrophorins E, F and G as monolyl monoterpene from *Botryosphaeria berengeriana* [J]. *Biosci Biotech Bioch*, 1998, 62: 2 260 ~ 2 262
- [55] Ogata T, Sano T, Harada Y. *Botryosphaeria* spp. isolated from apple and several deciduous fruit trees are divided into three groups based on the production of warts on twigs, size of conidia, and nucleotide sequences of nuclear ribosomal DNA ITS regions [J]. *Mycoscience*, 2000, 41: 331 ~ 337

- [56] 中国农业科学院果树研究所, 中国果树病虫害 (第 2 版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 1992
- [57] Phillips A J L, Pennycook S R. Taxonomy of *Botryosphaeria melanops* and its anamorph, *Fusicoccum advenum* [J]. *Sydowia*, 2005, 56 (2): 68 ~ 75
- [58] Shoemaker R A. Conidial states of some *Botryosphaeria* species on *Vitis* and *Quercus* [J]. *Can J Bot*, 1964, 42: 1 297 ~ 1 303
- [59] Burgess T, Wingfield M J, Wingfield B D. Simple sequence repeat (SSR) markers distinguish between morphotypes of *Sphaeropsis sapinea* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67: 354 ~ 362
- [60] Smith D R, Stanosz G R. Molecular and morphological differentiation of *Botryosphaeria dothidea* (anamorph *Fusicoccum aesculi*) from some other fungi with *Fusicoccum* anamorphs [J]. *Mycologia*, 2001, 93 (3): 505 ~ 515
- [61] Rehner S A, Uecker F A. Sequence variation in nuclear ribosomal DNA spacers ITS1 and ITS2 in *Phanopsis* [J]. *Can J Bot*, 1994, 72: 237 ~ 239
- [62] Witthuhn R C, Wingfield B D, Wingfield M J, et al. Monophyly of the conifer species in the *Cenocystis coenulescens* complex based on DNA sequence data [J]. *Mycologia*, 1998, 90: 96 ~ 101
- [63] LoBuglio K F, Pitt J I, Taylor J W. Phylogenetic analysis of two ribosomal DNA regions indicates multiple independent losses of a sexual *Talarces* state among asexual *Penicillium* species in subgenus *Biverticillium* [J]. *Mycologia*, 1993, 85: 592 ~ 604
- [64] O'Donnell K. Ribosomal DNA internal transcribed spacers are highly divergent in the phytopathogenic ascomycete *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*) [J]. *Current Genetics*, 1992, 22: 213 ~ 220
- [65] Ospina-Giraldo M D, Royse D J, Chen X, et al. Molecular phylogenetic analyses of biological control strains of *Trichoderma harzianum* and other biotypes of *Trichoderma* spp. associated with mushroom green mold [J]. *Phytopathology*, 1999, 89: 308 ~ 313
- [66] Taylor J W, Jacobson D J, Kroken S, et al. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi [J]. *Fungal Genet Biol*, 2000, 31: 21 ~ 32
- [67] 黄春燕, 刘开启. 苹果轮纹病及相关病毒病原菌的 RAPD 分析 [J]. *植物病理学报*, 2001, 31 (2): 164 ~ 169
- [68] 张星耀, 赵士光, 吕全, 等. 树木溃疡病原真菌类群分子遗传多样性研究. 小穴壳属, 壳孢属, 壳囊孢属, 盾壳霉属分类地位的分子证明 [J]. *林业科学*, 1999, 35 (3): 34 ~ 40
- [69] 张星耀, 赵士光, 吕全, 等. 树木溃疡病原真菌类群分子遗传多样性研究. *Botryosphaeria* 属 28S rDNA-PCR-RFLP 和 RAPD 解析 [J]. *林业科学*, 2000, 36 (2): 75 ~ 81
- [70] 张星耀, 赵嘉平, 梁军, 等. 树木溃疡菌主要类群系统地位及茶藨子葡萄座腔菌的种内一致性 [J]. *林业科学*, 2006, 42 (4): 25 ~ 30