

色疣节梗孢属—中国新记录种

寿夙蓉¹ 黄伊霞¹ 臧威^{1*} 孙剑秋¹ 周高峰¹ 孙翔²

(1. 绍兴文理学院 生命科学学院 浙江 绍兴 312000)

(2. 中国科学院微生物研究所 真菌学国家重点实验室 北京 100101)

摘要:【目的】调查我国植物病原真菌资源与多样性。【方法】采用经典真菌形态分类方法并结合序列分析结果对研究样品进行鉴定。【结果】从浙江省绍兴市平水镇的林下枯叶上分离到尖色疣节梗孢,对尖色疣节梗孢的形态特征进行了详细的观察和描述,并对其 ITS rDNA 序列进行分析。【结论】金缕梅叶斑病的尖色疣节梗孢病原菌在我国是首次发现,为我国真菌新记录种。

关键词: 尖色疣节梗孢, 叶斑病, 新记录种

A new recorded of *Gonatobotryum* in China

SHOU Huang-Rong¹ HUANG Yi-Xia¹ ZANG Wei^{1*} SUN Jian-Qiu¹
ZHOU Gao-Feng¹ SUN Xiang²

(1. College of Life Sciences, Shaoxing University, Shaoxing, Zhejiang 312000, China)

(2. State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: [Objective] To investigate and discover resources and diversity of plant pathogenic fungi in China. [Methods] Classical morphological features and ITS rDNA sequences were used for fungal identification. [Results] *Gonatobotryum apiculatum* was isolated from the fallen forest leaves in Pingshui Town, Shaoxing City, Zhejiang Province. The morphological characteristics of *G. apiculatum* were observed and described in detail. In addition, the ITS rDNA of *G. apiculatum* was amplified and sequenced. [Conclusion] *G. apiculatum* causing leaf spot of *Hamamelis* sp. was recorded for the first time from China.

Keywords: *Gonatobotryum apiculatum*, Leaf spot, New record

尖色疣节梗孢(*Gonatobotryum apiculatum*)可以引起金缕梅(*Hamamelis* sp.)的叶斑病^[1],使叶片呈现圆形的红褐色斑点^[2]。2013年秋季,从浙江省绍兴市平水镇的林下枯叶上分离到尖色疣节梗孢,这是

该病原菌在我国的首次发现,为我国真菌新记录种。本研究对尖色疣节梗孢的形态特征进行了详细的观察和描述,并对其 ITS rDNA 序列进行了扩增和测定。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(No. 31500020); 中国科学院微生物研究所真菌学国家重点实验室开放课题(No. SKLMKF201307); 浙江省重大科技专项项目(No. 2013C02006-1); 绍兴市公益性技术应用研究计划项目(No. 2014B70042); 绍兴文理学院大学生科研基金项目(2014)

*通讯作者: Tel: 86-575-88347520; 信箱: zangwei4670@sina.com

收稿日期: 2014-12-14; 接受日期: 2015-03-09; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-03-24

1 材料与方 法

1.1 材 料

菌株来源: 菌株 SX1, 2013 年秋季采用 PDA 固体培养基^[3]分离浙江省绍兴市平水镇林下枯叶真菌时获得, 标本保藏于绍兴文理学院生命科学学院微生物学实验室(保藏号 SX1)。

1.2 方 法

形态观察: 将充分活化后的菌株 SX1 转接于 PDA 平板, 培养后观察菌落、菌丝、分生孢子梗及分生孢子的形态特征; 采用载片培养法, 观察菌株 SX1 的分生孢子着生方式^[3]。

DNA 提取、ITS rDNA 扩增与测序: 从菌株 SX1 新鲜培养物中提取总 DNA 的方法参照 Guo 等^[4]进行。SX1 菌株 ITS rDNA 序列扩增, 使用引物对 ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。PCR 反应体系: 模板 DNA (20–50 ng/L) 1 μ L, 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, Mg²⁺ (25 mmol/L) 2.5 μ L, dNTPs (2 mmol/L) 0.5 μ L、引物 ITS5 和 ITS4 (10 μ mol/L) 各 0.5 μ L, Taq 酶(5 U/ μ L) 0.25 μ L, ddH₂O 补足至 25 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 40 s, 52 $^{\circ}$ C 50 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 36 个循环^[5]; 72 $^{\circ}$ C 10 min。获得 PCR 产物经过纯化后, 由北京华大基因研究中心完成测序。

2 结果与讨论

尖色疣节梗孢 *Gonatobotryum apiculatum* (Peck) S. Hughes, Can. J. Bot., 1953, 31: 594.中国新记录种, 图 1。

\equiv *Haplographium apiculatum* Peck, Ann. Rep. N. Y. St. Mus. 1876 [1874], 28: 62.

菌落在 PDA 培养基上 25 $^{\circ}$ C 培养 7 d, 直径 37–39 mm; 质地致密绒状, 表面轻微絮状, 黄褐色, 具有明显的辐射状沟纹, 有少量渗出液滴, 边缘规则; 背面黑褐色, 具有明显辐射状裂纹; 可溶性色素缺乏。

菌丝体部分表生、部分埋生, 不常分枝, 具隔,

光滑, 浅黄褐色至黄褐色, 菌丝直径 4.5–11.3 μ m。分生孢子梗单生, 少见分枝, 直立或较少膝状, 浅黄褐色、黄褐色至褐色, 分隔, 不分枝, 光滑; 顶端可延伸再生; 长度变化较大, 68.8–1100 μ m, 宽 4.5–11.8 μ m; 末端和中间产孢处形成节状膨大, 明显具细齿, 末端膨大(7.5–17.5) μ m \times (8.0–17.5) μ m, 中间膨大(7.5–20.0) μ m \times (7.5–18.8) μ m; 每个分生孢子梗上节状膨大的数量在 1–8 个之间变化。节状膨大可育, 其细齿上产芽生孢子, 分生孢子链状排列, 孢子链经常在基部第 1 个、第 2 个或第 3 个出现分枝, 末端分生孢子比基部分生孢子更小; 不分隔, 光滑, 浅色至黄褐色, 柠檬形、椭圆形至近球形, (2.8–12.8) μ m \times (2.0–7.2) μ m, 具明显小齿。

与 Walker 和 Minter^[6]、Kendrick 等^[7]对尖色疣节梗孢(*Gonatobotryum apiculatum*)的描述相比较, 菌株 SX1 的分生孢子梗长度较短, 其他主要形态特征基本一致。

世界分布: 尖色疣节梗孢在美国、加拿大和印度均有报道^[2,6], 但是在我国境内还是首次发现。

色疣节梗孢属(*Gonatobotryum* Saccardo)模式种是 *G. fuscum* (Sacc.) Sacc.。属的主要特征是: 分生孢子梗单生, 产孢细胞顶生或间生、多芽, 分生孢子链状^[2,8]。1981 年, Walker 和 Minter^[6]排除了 *G. bahiense* Batista、*G. dichotomum* Cooke & Massee、*G. indicum* Munjal & Gill、*G. maculicola* (Winter) Sacc.、*G. sclerotigenum* van Warmelo、*G. tenellum* (Peck) Peck 等过去曾经使用的名称。目前承认的色疣节梗孢属真菌包括 5 种, 即 *G. apiculatum* (Peck) Hughes、*G. bimorphosporum* M. Jacob & D. J. Bhat、*G. fuscum* (Sacc.) Sacc.、*G. parasiticum* (Thaxt.) Jane Walker & Minter、*G. piceae* Dörfelt & Schmidt, 5 种色疣节梗孢的主要区别见表 1。

对尖色疣节梗孢 SX1 菌株 ITS rDNA 区域进行扩增和测序并提交 GenBank (登录号 KJ620838)。其中, ITS1 包括 158 个碱基, 5.8S 包括 153 个碱基, ITS2 包括 176 个碱基, 这是该属真菌首次进行 ITS rDNA 测序。

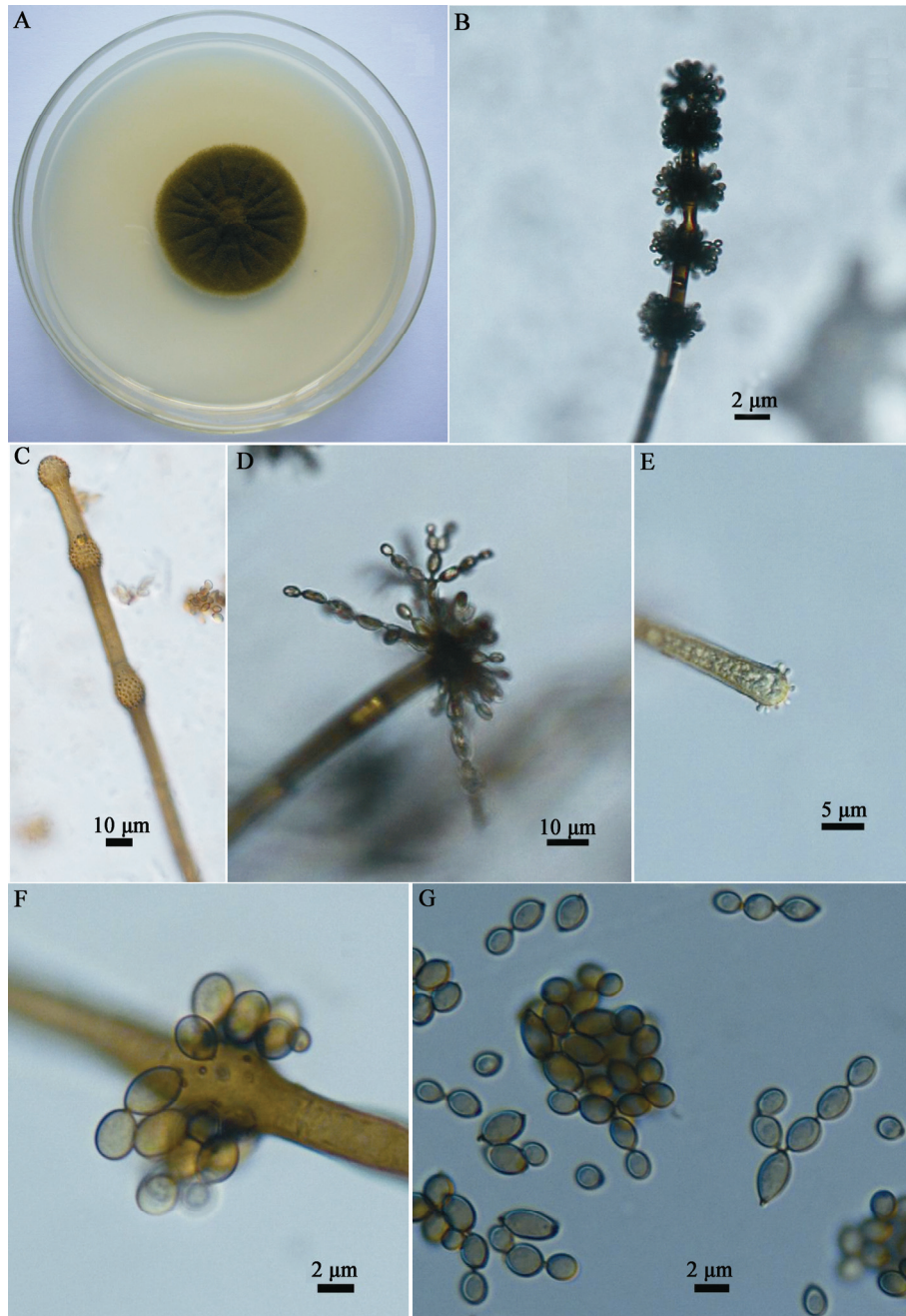


图 1 尖色疣节梗孢

Figure 1 *Gonatobotryum apiculatum*

注: A: 在 PDA 培养基上 25 °C 培养 7 d 的菌落; B, C: 分生孢子梗; D: 分生孢子链; E: 芽生孢子的形成; F: 分生孢子梗节状膨大的产孢位点; G: 分生孢子。

Note: A: Colony; B, C: Conidiophore; D: Conidia chains; E: Blastospore formation; F: Conidiogenous loci on ampullae of conidiophore; G: Conidia.

表 1 5 种色疣节梗孢的形态特征和生境比较
Table 1 Comparison of morphology and habitat of the five species of *Gonatobotryum*

分类单元 Taxa	分生孢子梗 Conidiophore (μm)	分生孢子梗 膨大 Ampullae (μm)	分生孢子 Conidia (μm)	生境 Habitat	参考文献 References
尖色疣节梗孢 <i>G. apiculatum</i> (Peck) Hughes	(250–2 000)×(5–12)	7–19	(3–13)×(2–7)	腰果, 金缕梅, 漆树, 土壤, 印度, 加拿大, 美国 (<i>Anacardium</i> , <i>Hamamelis</i> , <i>Rhus</i> , soil, India, Canada, U.S.A)	[6-7]
<i>G. bimorphosporum</i> M. Jacob & D. J. Bhat	(175–550)×(6.2–10.0)	15–22	两种类型 Two types: 第 1 类型孢子 (7.5–11.5)×(3.0–4.5); 第 2 类型孢子 (3.0–6.2)×(2.5–3.5)	内生于刺黄果的叶, 印度 (Endophyte in leaves of <i>Carissa carandas</i> L., India)	[8]
<i>G. fuscum</i> (Sacc.) Sacc.	(250–2 000)×(11–16)	23–38	(10–15)×(5–7)	树皮、木头和真菌, 英国, 意大利, 美国(Bark, wood and parasitic on other fungi, Great Britain, Italy, U.S.A)	[6]
<i>G. parasiticum</i> (Thaxt.) Jane Walker & Minter	(250–2 000)×(9–15)	24–45	(5.0–12.0)×(4.0–7.0)	菌生真菌, 澳大利亚, 美国(Parasitic on other fungi, Austria, U.S.A)	[6]
<i>G. piceae</i> Dörfelt & Schmidt	(90–248)×(5–10)	9.5–16.5	(9.0–16.0)×(3.5–5.5)	波罗的海琥珀, 俄罗斯 (Baltic amber, Russian)	[9]

参 考 文 献

- [1] Barnett HL, Hunter BB. Illustrated Genera of Imperfect fungi[M]. Fourth edition. St. Paul Minnesota: The American Phytopathological Society Press, 1998: 1-218
- [2] Ellis MB. Dematiaceous Hyphomycetes[M]. Kew, Surrey: Commonwealth Mycological Institute, 1971: 1-608
- [3] Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Common Fungi[M]. Beijing: Science Press, 1978: 1-317 (in Chinese)
中国科学院微生物研究所. 常见与常用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 1-317
- [4] Guo LD, Hyde KD, Liew ECY. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences[J]. New Phytologist, 2000, 147(3): 617-630
- [5] White TJ, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[A]//Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, et al. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications[M]. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322
- [6] Walker JC, Minter AW. Taxonomy of *Nematogonum*, *Gonatobotrys*, *Gonatobotryum*, and *Gonatorrhodiella*[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1981, 77(2): 299-319
- [7] Kendrick WB, Cole GT, Bhatt GC. Conidium ontogeny in hyphomycetes. *Gonatobotryum apiculatum* and its botryose blastospores[J]. Canadian Journal of Botany, 1968, 46: 591-596
- [8] Jacob M, Bhat DJ. Two new endophytic conidial fungi from India[J]. Cryptogamie Mycologie, 2000, 21(2): 81-88
- [9] Dörfelt H, Schmidt AR. A conifer seeding with two herbicolous fungi from the Baltic amber forest[J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2007, 155(4): 449-456