

# 金黄壳囊孢菌(*Cytospora chrysosperm a*)的 培养性状和营养体亲和性\*

张星耀<sup>1</sup>, 陈海燕<sup>2</sup>, 梁 军<sup>1</sup>, 田呈明<sup>3</sup>, 吕 全<sup>1</sup>

(1 中国林业科学研究院 森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境与保护重点实验室, 北京 100091;

2 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 3 北京林业大学 省部共建森林培育与保护重点实验室, 北京 100083)

**[摘 要]** 金黄壳囊孢菌(*Cytospora chrysosperm a*)是一类重要的树木腐烂病菌, 其培养性状和真菌菌丝的营养体亲和性能够反映真菌的遗传、形态、生理、病理和生态等方面的差异。为了探讨金黄壳囊孢菌的遗传变异和遗传多样性, 研究对采自我国9个省份的12个杨树品种上的30株*C. chrysosperm a*在4种培养基中的培养性状进行了观察, 并在PDA培养基上进行了真菌的营养体亲和性试验。结果表明, 供试金黄壳囊孢菌在培养性状上存在明显的种群分化, 通过模糊聚类可将30个菌株划分为8个组, 且其亲缘关系的远近与地理来源有明显的相关性; 30个菌株在PDA上的亲和性配对试验结果表明, 绝大多数菌株间产生黑色色素带, 少数菌株以及同一菌株不同菌落间不产生此色素带, 30个菌株归为25个营养体亲和群(VCG), 其中21个VCG各只含1个菌株, 1个VCG含3个菌株, 只有3个VCG各含2个菌株。研究结果说明供试菌株的营养体亲和性与其地理来源无明显相关性。

**[关键词]** 金黄壳囊孢; 培养性状; 营养体亲和性

**[中图分类号]** S763.150.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2007)03-0099-07

## Cultural morphology and vegetative compatibility of *Cytospora chrysosperm a* isolates

ZHANG Xing-yao<sup>2</sup>, CHEN Hai-yan<sup>1</sup>, LIANG Jun<sup>2</sup>, TIAN Cheng-ming<sup>3</sup>, LU Quan<sup>2</sup>

(1 Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Beijing 100091, China;

2 College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** *Cytospora chrysosperm a* is a major pathogenic fungi of trees rot diseases and its cultural morphology and vegetative compatibility could reflect the differentiation of genetic in morphology, physiology, and pathogenic and geographical region. In order to investigate the genetic change and diversity of *Cytospora chrysosperm a*, thirty isolates of *C. chrysosperm a* were obtained on 12 poplars from 9 provinces in China, and their different cultural morphology on four culture mediums and vegetative compatibility on PDA were observed. The results showed that there were significant cultural and morphological differences among isolates of *C. chrysosperm a*. Based on cultural morphology the isolates could be divided into 8 groups and had relation with geographical position. Most of isolates produced incompatible reaction by mycelial pairings on PDA in which a reaction color line (dark green) between the two isolates developed in interaction zone; few isolates and same isolates were compatible reaction in which no reaction color line developed. The 30 isolates were divided into 25 vegetative compatibility groups (VCGs). One of those 25 VCGs included 3 isolates, three of those 25 VCGs included 2 isolates, and 21 only included 1 isolates respectively. This study

\* [收稿日期] 2006-02-24

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30271084)

[作者简介] 张星耀(1957-), 男, 内蒙古包头人, 研究员, 博士, 主要从事森林保护学研究。

showed no apparent correlation between the vegetative compatibility groups and the geographical resource region of the fungal isolates

**Key words:** *Cytospora chrysosperm a*; cultural morphology; vegetative compatibility

由金黄壳囊孢菌(*Cytospora chrysosperm a*)引起的树木腐烂病是一类重要病害,在全世界普遍分布,广泛发生,受害树种种类多,主要包括杨树、柳树、榆树、刺槐、梧桐、桉木、核桃、桉树、桦树、落叶松等。在我国,此菌在全国范围内广泛分布,在西北、华北及东北地区是危害杨树生产的主要病原因子<sup>[1]</sup>。

形态特征是真菌遗传特性的体现,虽然环境条件及营养条件会引起一些形态特征的改变,但在特定的试验条件下,形态特征可在一定程度上稳定地反映其遗传、生理、病理和生态等方面的差异。真菌营养体亲和性(vegetative compatibility, VC)是指真菌营养菌丝体通过菌丝连接和融合相互生长在一起,形成稳定的异核体的能力。从1936年Sohuhz发现立枯丝核菌(*Rhizoctonia*)的菌丝融合现象以来<sup>[2]</sup>,随着研究的不断深入,国内外学者相继在*Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Pyricularia* sp. *Sphaeropsis sapinea*等多种真菌种内观察到菌株间

的菌丝融合现象<sup>[2-10]</sup>,并采用菌丝融合方法对其进行了种内生理分化的研究。菌丝融合已被证明能够比较客观地反映真菌种内菌株在遗传、形态、生理和生态诸方面的差异,并对研究真菌无性重组及遗传变异具有重要的理论意义。但目前有关金黄壳囊孢菌的种内菌丝融合研究尚未见报道。本试验对采自12个杨树品种上的30个金黄壳囊孢菌菌株的培养性状及营养体亲和性进行了研究,以期探讨金黄壳囊孢菌的遗传变异和遗传多样性问题。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

2004-06~2005-04从山西、甘肃、黑龙江、内蒙等9个省的出现枝干腐烂病斑的不同杨树品种上采集病害标本,经病组织分离与纯化后获得30株金黄壳囊孢菌菌株。菌株分离参考方仲达<sup>[11]</sup>的方法。菌株来源与寄主情况见表1。

表 1 供试金黄壳囊孢菌菌株的来源与寄主

Table 1 Sources and hosts of *Cytospora chrysosperm a*

| 序号 No. | 菌株 Isolate | 采集地点 Collected place         | 寄主 Host                                                 |
|--------|------------|------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 1      | CXY166     | 山西太谷 Taigu, Shanxi           | 毛白杨 <i>P. tomentosa</i> Carr                            |
| 2      | CXY168     | 山西临汾 Linfen, Shanxi          | 毛白杨 <i>P. tomentosa</i> Carr                            |
| 3      | CXY169     | 山西临汾 Linfen, Shanxi          | 毛白杨 <i>P. tomentosa</i> Carr                            |
| 4      | CXY172     | 山东东营 Dongyin, Shandong       | 毛白杨 <i>Populus tomentosa</i> Carr                       |
| 5      | CXY211     | 内蒙古加格达齐 Jiagedaqi, Neimenggu | 银中杨 <i>Populus Linn</i>                                 |
| 6      | CXY217     | 辽宁新民 Xinming, Liaoning       | 辽宁杨 <i>Populus liaoning</i> Linn                        |
| 7      | CXY221     | 黑龙江黑河 Heihe, Heilongjiang    | 银中杨 <i>Populus Linn</i>                                 |
| 8      | CXY222     | 内蒙古加格达齐 Jiagedaqi, Neimenggu | 大青杨 <i>Populus ussuriensis</i> Kom                      |
| 9      | CXY224     | 黑龙江大庆 Daqing, Heilongjiang   | 小×青 <i>P. simonii</i> Carr × <i>P. cathayana</i>        |
| 10     | CXY225     | 黑龙江大庆 Daqing, Heilongjiang   | 小×青 <i>P. simonii</i> Carr × <i>P. cathayana</i>        |
| 11     | CXY227     | 黑龙江大庆 Daqing, Heilongjiang   | 小×青 <i>P. simonii</i> Carr × <i>P. cathayana</i>        |
| 12     | CXY237     | 黑龙江宁安 Ning'an, Heilongjiang  | 中牡1号杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. cathayana</i>         |
| 13     | CXY241     | 黑龙江宁安 Ning'an, Heilongjiang  | 中绥12杨 <i>P. thersina</i> × <i>P. nigra</i>              |
| 14     | CXY242     | 吉林长春 Changchun, Jilin        | 北京605杨 <i>Populus beijingsensis</i> Linn                |
| 15     | CXY246     | 吉林龙井 Longjin, Jilin          | 银中杨 <i>Populus Linn</i>                                 |
| 16     | CXY248     | 黑龙江漠河 Mohe, Heilongjiang     | 大青杨 <i>Populus ussuriensis</i> Kom                      |
| 17     | CXY251     | 黑龙江塔河 Tahe, Heilongjiang     | 大青杨 <i>Populus ussuriensis</i> Kom                      |
| 18     | CXY253     | 黑龙江塔河 Tahe, Heilongjiang     | 大青杨 <i>Populus ussuriensis</i> Kom                      |
| 19     | CXY321     | 甘肃景泰 Jingtai, Gansu          | 新疆杨 <i>Populus alba</i> L. var <i>pyramidalis</i> Bunge |
| 20     | CXY325     | 甘肃景泰 Jingtai, Gansu          | 新疆杨 <i>Populus alba</i> L. var <i>pyramidalis</i> Bunge |
| 21     | CXY326     | 甘肃景泰 Jingtai, Gansu          | 大官杨 <i>Populus dakuanensis</i> Hsu                      |
| 22     | CXY336     | 甘肃武威 Wuyei, Gansu            | 二白杨 <i>Populus × gansuensis</i>                         |
| 23     | CXY337     | 甘肃武威 Wuyei, Gansu            | 二白杨 <i>Populus × gansuensis</i>                         |
| 24     | CXY345     | 甘肃武威 Wuyei, Gansu            | 二白杨 <i>Populus × gansuensis</i>                         |

续表 1 Continued of Table 1

| 序号 No. | 菌株 Iso late | 采集地点 Collected place      | 寄主 Host                                                     |
|--------|-------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 25     | CXY348      | 甘肃张掖 Zhangye, Gansu       | 二白杨 <i>P op ulus × g ansuensis</i>                          |
| 26     | CXY354      | 甘肃张掖 Zhangye, Gansu       | 二白杨 <i>P op ulus × g ansuensis</i>                          |
| 27     | CXY368      | 甘肃嘉峪关 J iayuguan, Gansu   | 新疆杨 <i>P op ulus alba</i> L. var <i>py ram idalis</i> Bunge |
| 28     | CXY391      | 青海湟中 Huangzhong, Q inghai | 青杨 <i>P op ulus cathayana</i>                               |
| 29     | CXY850      | 四川广汉 Guanghan, Sichuan    | 杨树 <i>P op ulus</i> sp.                                     |
| 30     | CXY887      | 四川广汉 Guanghan, Sichuan    | 杨树 <i>P op ulus</i> sp.                                     |

1 2 30 株金黄壳囊孢菌菌株的培养性状试验

1 2 1 培养性状观察 将保存于 PDA 斜面的 30 个菌株分别接种于直径 90 mm 左右的 PDA 平板上,于 25 无光照培养 4 d,取各菌株菌落边缘直径 5 mm 的菌饼,分别置于 PDA (马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL)、Czapek (蔗糖 30 0 g,KCl 0 5 g,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g,NaNO<sub>3</sub> 2 0 g,MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0 5 g,FeSO<sub>4</sub> 0 01 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL)、M YA (酵母浸膏 15 g,麦芽浸膏 15 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL)和 SZ(杨树皮 100 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL)培养基上,设 3 个重复,放置于 25 下培养,每天测量其生长量,4~ 7 d 后记录各菌株菌落的形态、颜色和色素分泌等性状。

1 2 2 模糊聚类 各菌株的菌落形态和性状(菌落颜色、形状、形态结构、色素分泌等)的模糊相似度(*S*)按  $S = N_{xy} / I$  计算。式中: $N_{xy}$  为菌株  $x$  和菌株  $y$  共有的形态和性状的项目数, $I$  为所比较的总项目数。根据  $S$  ( $0 \leq S \leq 1$ ) 值对供试菌株直接进行模糊聚类<sup>[12]</sup>,聚类分析在 SPSS 11.0 软件上进行。

1 3 30 株金黄壳囊孢菌菌株的营养体亲和性试验 从 30 株金黄壳囊孢菌菌株的菌落边缘切取直径 5 mm 的菌饼,移入盛有 PDA 培养基的平皿中进行配对试验。配对排列采用 2 种方式: (1) 每平皿中心 1 块,周围等距离放置 6 块; (2) 每平皿中心 1 块,周围等距离放置 8 块。25 下无光照培养,1 周后根

据不同菌株的菌落之间产生的黑色色素带及带的强弱确定亲和性<sup>[13]</sup>: 无黑色色素带为两菌株亲和,记为“-”;有较深黑色色素带为两菌株不亲和,记为“+”;两菌株间产生半段黑色色素带或色素带浅为部分亲和或可能亲和,记为“\*”。以相同菌株不同菌落间的接触反应作对照。

2 结果与分析

2 1 30 株金黄壳囊孢菌的培养性状

同一供试菌株在不同培养基上菌落的生长形态、颜色、表面结构及色素分泌都略有不同。从表 2 可以看出,菌落在 PDA 和 M YA 培养基上生长较密,在 SZ 培养基上稍稀疏,而在 Czapek 培养基上菌落稀疏、无色。菌株分泌色素颜色在 PDA 上为黄绿色或桔黄色,在 M YA 培养基上则为桔红色或桔黄色。有些菌株(CXY166,CXY168 和 XY169 等)在 SZ 培养基上会产生同心圆轮纹,而在 PDA 和 Czapek 培养基上没有;而有些菌株(CXY224,CXY227 和 CXY237 等)在 SZ 和 PDA 培养基上都产生同心圆轮纹,但在 Czapek 和 M YA 上没有;一些菌株(CXY224,CXY225,CXY227,CXY237,CXY253,CXY326 和 CXY348)在 SZ 培养基上于生长初期菌饼周围会出现颜色加深的现象,而其他菌株未见此现象,在其他培养基上也无此现象。

表 2 金黄壳囊孢菌在 4 种培养基上的菌落形态和性状

Table 2 Morphological characteristics of *Cy tosp ora chrysosp em a* isolater on four different culture media

| 培养特征<br>Culture<br>character | PDA         |                         |                              |                  | Czapek                          |                              | SZ                                              | M YA        |                         |                  |
|------------------------------|-------------|-------------------------|------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------|-------------|-------------------------|------------------|
|                              | 颜色<br>Color | 菌落形状<br>Colony<br>shape | 表面形态<br>Surface<br>structure | 色素分泌<br>Pign ent | 颜色与<br>形态<br>Color and<br>shape | 表面形态<br>Surface<br>structure | 菌饼颜色<br>变化<br>M ycelial<br>plug color<br>change | 颜色<br>Color | 形态<br>Confor-<br>mation | 色素分泌<br>Pign ent |
| CXY166                       | 2           | 1                       | 2                            | 2                | 1                               | 1                            | 2                                               | 2           | 1                       | 1                |
| CXY168                       | 2           | 2                       | 2                            | 2                | 2                               | 1                            | 2                                               | 2           | 2                       | 2                |
| CXY169                       | 2           | 1                       | 2                            | 2                | 1                               | 1                            | 2                                               | 2           | 1                       | 1                |
| CXY172                       | 2           | 1                       | 2                            | 2                | 1                               | 1                            | 2                                               | 2           | 1                       | 1                |
| CXY211                       | 2           | 1                       | 1                            | 2                | 1                               | 2                            | 2                                               | 2           | 1                       | 1                |
| CXY217                       | 2           | 2                       | 2                            | 2                | 2                               | 2                            | 2                                               | 2           | 2                       | 2                |
| CXY221                       | 2           | 1                       | 2                            | 2                | 1                               | 2                            | 2                                               | 2           | 2                       | 2                |

续表 2 Continued of Table 2

| 培养特征<br>Culture<br>character | PDA         |                         |                              | Czapek          |                                 | SZ                           | M YA                                           |             |                         |                 |
|------------------------------|-------------|-------------------------|------------------------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------|-------------|-------------------------|-----------------|
|                              | 颜色<br>Color | 菌落形状<br>Colony<br>shape | 表面形态<br>Surface<br>structure | 色素分泌<br>Pigment | 颜色与<br>形态<br>Color and<br>shape | 表面形态<br>Surface<br>structure | 菌饼颜色<br>变化<br>Mycelial<br>plug color<br>change | 颜色<br>Color | 形态<br>Confor-<br>mation | 色素分泌<br>Pigment |
| CXY222                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 2                            | 2                                              | 2           | 2                       | 2               |
| CXY224                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY225                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY227                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY237                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY241                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 2                            | 2                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY242                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 2                            | 2                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY246                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 2                            | 2                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY248                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY251                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 2                            | 2                                              | 2           | 2                       | 2               |
| CXY253                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY321                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY325                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY326                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY336                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY337                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY345                       | 2           | 2                       | 2                            | 2               | 2                               | 1                            | 2                                              | 2           | 2                       | 2               |
| CXY348                       | 1           | 1                       | 1                            | 1               | 2                               | 1                            | 1                                              | 1           | 2                       | 2               |
| CXY354                       | 2           | 1                       | 1                            | 2               | 1                               | 2                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY368                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 2               |
| CXY391                       | 2           | 1                       | 2                            | 2               | 1                               | 1                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY850                       | 1           | 2                       | 2                            | 1               | 1                               | 2                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |
| CXY887                       | 1           | 2                       | 2                            | 1               | 1                               | 2                            | 2                                              | 2           | 1                       | 1               |

注: PDA (颜色: 1. 灰白色, 2. 浅桔黄色; 菌落形状: 1. 圆形辐射状生长, 2. 非圆形; 表面形态: 1. 同心圆轮纹, 2. 无轮纹; 色素分泌: 1. 皿底黄绿色, 2. 皿底桔黄色); Czapek (1. 无色辐射生长, 2. 无色菌落雪花状); SZ (表面形态: 1. 同心圆轮纹, 2. 无轮纹; 菌饼颜色变化: 1. 菌饼颜色加深, 2. 无变化); M YA (颜色: 1. 灰白色, 2. 浅土白色; 形态: 1. 菌丝密平伏, 2. 菌丝相对稀疏平伏; 色素分泌: 1. 桔红色, 2. 桔黄色)。

Note: PDA (color: 1. offwhite, 2. saffron; colony shape: 1. circular radiation growth, 2. nocircular; surface structure: 1. concentric ring spot, 2. no ring spot; pigment: 1. Kelly, 2. orange); Czapek (color and shape: 1. achromaticity and radiated growth, 2. achromaticity and clony snow flake); SZ (surface structure: 1. concentric ring spot, 2. no ring spot; mycelial plug color change: 1. mycelial plug color deep, 2. no change); M YA (color: 1. offwhite, 2. pale white; conformation: 1. mycelial prostration, 2. mycelial sparse and prostration; pigment: 1. hyacinth, 2. orange).

2.2.30 株金黄壳囊孢菌培养性状的聚类分析 株进行模糊聚类分析, 将模糊近似值  $S = 1$  的划为  
根据表 2 中的菌落形态和性状特征, 对 30 个菌 一类, 共得到 8 个组, 见表 3。

表 3 金黄壳囊孢菌各菌株组间培养性状的相似性

Table 3 Similarity of cultural characteristics of *Cyrtospora chrysosperm*a between the groups

| 分组<br>Group | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8 |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| 2           | 0.9 |     |     |     |     |     |     |   |
| 3           | 0.7 | 0.6 |     |     |     |     |     |   |
| 4           | 0.7 | 0.6 | 0.6 |     |     |     |     |   |
| 5           | 0.5 | 0.6 | 0.4 | 0.5 |     |     |     |   |
| 6           | 0.7 | 0.8 | 0.4 | 0.6 | 0.6 |     |     |   |
| 7           | 0.3 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.3 | 0.2 |     |   |
| 8           | 0.8 | 0.7 | 0.7 | 0.9 | 0.5 | 0.7 | 0.3 |   |

注: 组 1: CXY166, CXY169, CXY172, CXY321, CXY325, CXY326, CXY336, CXY337, CXY368; 组 2: CXY168, CXY391; 组 3: CXY217, CXY345; 组 4: CXY241, CXY242, CXY246; 组 5: CXY850, CXY887; 组 6: CXY211, CXY354; 组 7: CXY224, CXY225, CXY227, CXY237, CXY253, CXY348; 组 8: CXY221, CXY222, CXY251。

Note: group 1: CXY166, CXY169, CXY172, CXY321, CXY325, CXY326, CXY336, CXY337, CXY368; group 2: CXY168, CXY391; group 3: CXY217, CXY345; group 4: CXY241, CXY242, CXY246; group 5: CXY850, CXY887; group 6: CXY211, CXY354; group 7: CXY224, CXY225, CXY227, CXY237, CXY253, CXY348; group 8: CXY221, CXY222, CXY251。

根据这 8 组间的相似值直接进行模糊聚类分析, 得到 30 株病菌离体培养性状的模糊聚类亲缘关系(图 1)。从图 1 可以看出, 在类间距离为 25 时, 30 株病菌被分为 2 大类: 一类为组 1、2、3、5、6, 另一类为组 4、7、8。而第一大类在类间距离大约为 12 时又被分为 2 类: 一类为组 1, 另一类为组 2、3、5、6。从所采用的 30 株菌株看, 24 个菌株来自于自然气候地理区划的我国东北和西北地区, 只有 6 个菌株来自华北、华东和西南地区。组 4、7、8 里的菌株除

CXY348 来自甘肃外, 其余都来自东北地区, 在聚类树状图中这 3 组的亲缘关系也较近; 组 1 中除了 CXY172 来自华东外, 其余都来自西北; 组 2、3、6 中各有 2 个菌株, 组 3 和 6 里来自西北和东北的各 1 株, 组 2 里的 CXY168 虽然来自于山西临汾, 但是其气候特征与西北的陕西、内蒙西部等均有较大的相似性, 因此这里认为其地理来源为西北地区; 而组 5 的 2 个菌株来源于西南地区。可见聚类树状图体现了不同地理来源的菌株之间的亲缘关系。

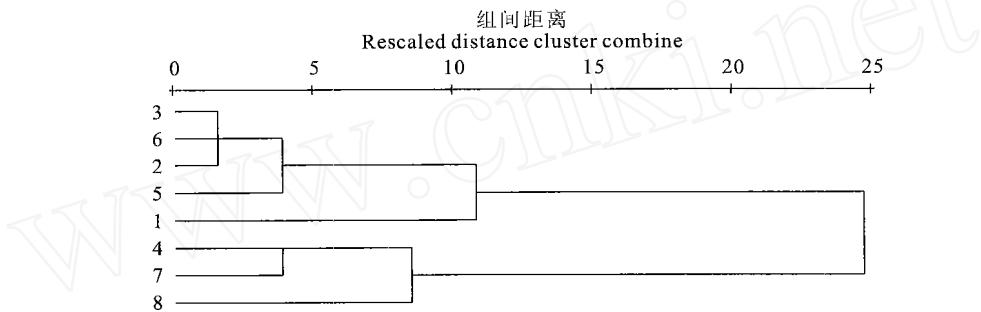


图 1 30 株金黄壳囊孢菌菌株离体培养性状聚类结果

Fig 1 Dendrogram of *Cy tosp ora chrysosp em a* isolates based on colony morphological characteristics

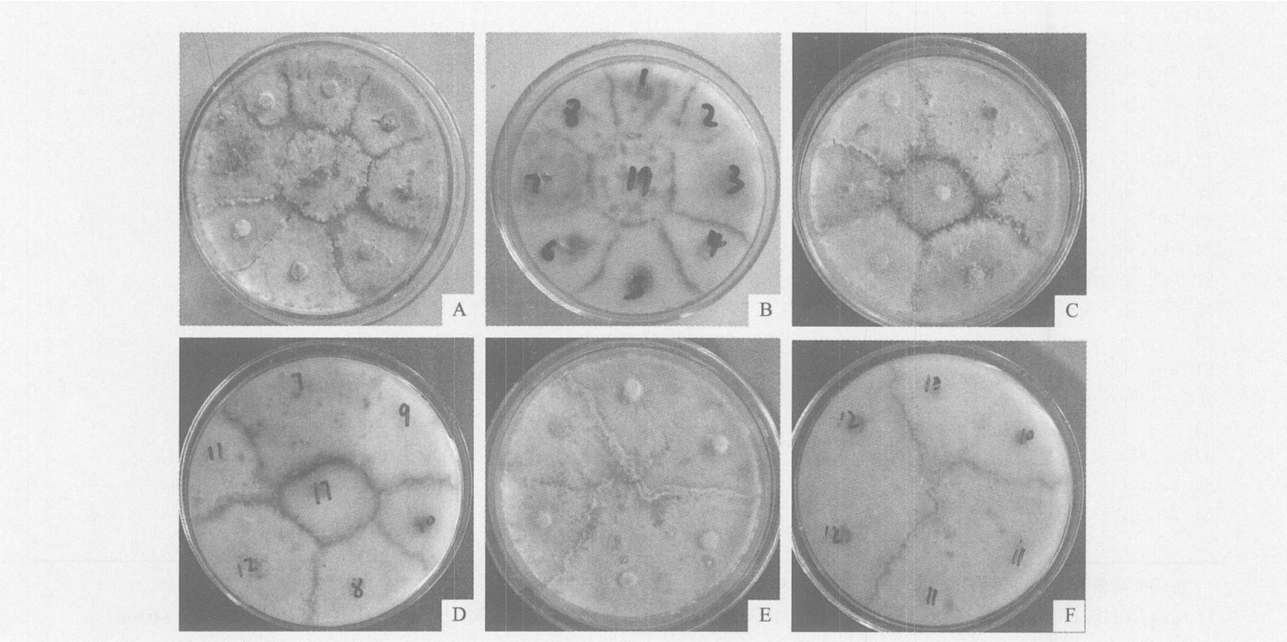


图 2 PDA 培养基上金黄壳囊孢菌菌株配对生长情况

A 和 B 为不同菌株以方式 2 配对的生长情况; C 和 D 为不同菌株以方式 1 配对的生长情况; E 和 F 为相同菌株之间的配对反应

Fig 2 Results of mycelial parings on PDA

A ,B. mycelial of different strains parings by method 2; C,D. mycelial of different strains parings by method 1;  
E, F. mycelial of same strain parings

2 3 30 株金黄壳囊孢菌菌株的营养体亲和性测定  
2 3 1 配对生长结果观察 供试菌株配对培养 1

周后, 有些菌株产生的色素带在变色线区的双侧, 而在相同菌株的菌落之间以及少数不同菌株的菌落之

间却没有出现此变色线,见图 2。在生长 2 周后,有的菌株在色素带上产生分生孢子器。亲和与否在平皿配对培养的菌丝体水平上有明显异同的表征。由于每个菌株的生长快慢不同,在试验中有几个生长慢的菌株被两边长得快的菌株包围,使其不能与皿中心菌株接触。根据 2 种方式的试验效果,以每平皿中心 1 块,周围等距离放置 8 块的配对方式较好。

供试的 30 个菌株在 PDA 培养基上以 1 和 2 两种排列方式进行配对生长。结果表明,30 个菌株中

绝大多数菌株间的营养体呈现不亲和反应(菌落间产生色素带)。从表 4 可以看出,大多数菌株在相互菌落间形成明显的中间共有的色素分界带,这种表征占有配对不亲和反应的 90% 以上;只有少数菌株间呈现营养体亲和反应(菌落间不产生任何色素带);另有部分菌株间产生半段或较淡的色素带;作为对照的所有同菌株的菌落间的营养体均成亲和反应,相互间没有形成色素隔离带(图 2)。

表 4 金黄壳囊孢菌菌株间的营养体亲和性

Table 4 Results of vegetative compatibility among *Cytospora chrysosperm*a isolates

| 编号<br>No | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 |
|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 2        | + |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 3        | + | + |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 4        | * | + | + |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 5        | * | + | + | * |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 6        | + | * | + | + | * |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 7        | + | * | * | + | + | * |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 8        | * | + | + | + | * | + | + |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 9        | + | + | + | + | + | + | - | + |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 10       | + | + | + | + | + | + | * | + | + |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 11       | + | * | * | + | + | + | + | + | + | +  | *  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 12       | + | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | *  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 13       | + | + | * | * | * | * | + | + | + | +  | +  | *  | +  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 14       | + | + | * | + | + | * | + | + | + | +  | +  | *  | +  | -  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 15       | + | + | + | * | + | + | * | + | + | +  | *  | *  | +  | -  | -  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 16       | * | + | * | + | + | * | * | + | + | +  | +  | +  | *  | *  | *  | *  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 17       | * | + | + | * | + | * | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 18       | + | + | * | + | + | + | + | + | + | +  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 19       | + | + | + | * | + | + | * | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | *  | *  | +  | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 20       | * | + | * | * | * | + | + | + | + | +  | +  | +  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 21       | + | + | * | + | + | * | + | + | + | +  | +  | *  | +  | *  | *  | +  | +  | +  | *  | +  | -  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 22       | + | + | * | + | + | * | + | + | + | +  | *  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | *  | *  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 23       | + | + | + | + | * | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | *  | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    |
| 24       | + | + | * | + | + | * | + | + | + | +  | +  | *  | +  | +  | *  | *  | *  | +  | +  | *  | +  | *  | +  | +  |    |    |    |    |    |
| 25       | + | + | * | + | * | + | + | * | + | *  | +  | +  | *  | *  | *  | *  | *  | +  | *  | *  | +  | *  | +  | +  | +  |    |    |    |    |
| 26       | + | + | + | * | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | *  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |    |    |    |
| 27       | * | + | + | + | + | + | * | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | *  | +  | *  | *  | *  | *  | *  |    |    |
| 28       | * | + | * | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |    |
| 29       | + | * | + | + | + | * | * | + | + | +  | *  | +  | +  | *  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | *  |
| 30       | + | * | * | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | +  | +  | +  | *  | +  | +  | *  | +  | +  | +  | +  | *  | -  |

注: +. 两菌株间色素带很深; \*. 两菌株间产生半段或色素带浅; -. 无色素带。  
Note: +. Deep pigment between two strains; \*. Part or light pigment between two strains; -. No pigment between two strains

2 3 2 金黄壳囊孢菌的营养体亲和类群 根据表 4, 将来自我国不同地区不同杨树品种上的 30 个金黄壳囊孢菌菌株分为 25 个营养体亲和类群(VCG), 这说明供试菌体中存在着较大的遗传分化。在 25 个 VCG 中, 有 21 个 VCG 分别只含 1 个菌株, 有 3 个 VCG 分别含有 2 个菌株(CXY221 和 CXY224; CXY325 和 CXY326; CXY850 和

CXY887); 有 1 个 VCG 中含有 3 个菌株(CXY241、CXY242 和 CXY246)。  
2 3 3 金黄壳囊孢菌的 VCG 与寄主种类及地理来源的关系 从试验结果可以看出, 金黄壳囊孢菌的 VCG 与寄主种类和地理来源无明显关系, 如 CXY168 和 CXY169 来自山西临汾同一杨树品种(毛白杨), 但其营养体却分属 2 个 VCG, 而地理来

源不同的CXY241(黑龙江宁安)、CXY242(吉林长春)和CXY246(吉林龙井)却同在一个VCG中;虽然CXY850和CXY887、CXY325和CXY326来源于同一地方,且属于同一VCG,由于每个VCG里只有2个菌株,不能说明地理来源对VCG的划分有影响。

### 3 结论与讨论

本试验所用的金黄壳囊孢菌(*Cytospora chrysosporia*)菌株采自9个省的12个杨树品种。研究表明,我国的金黄壳囊孢菌在培养性状上存在着明显的类群分化,供试的30个菌株可被分为8组。组4、7、8的菌株大多来源于东北地区,组1多来源于西北地区,组5的2个菌株来源于西南地区,只有组2、3、6的菌株地理来源不同,地理来源相同且被划分到一组的菌株数占供试菌株的63%,因此培养性状与地理来源是有关系的。从培养性状的模糊聚类树状图也可以看出,大多来源于东北地区的组4、7、8的亲缘关系也较近。

用于鉴定真菌营养体亲和性的方法主要有3种:一是通过隐性的营养缺陷型或色素标记的互补作用来测定异核体的形成;二是通过抗衡区的产生来确定不能形成异核体;三是通过菌系(这些菌系部分为双倍体,即在一个或多个不亲和位点是异核的)的生长特性来观察测定<sup>[14]</sup>。本试验采用第2种方法快速测定了金黄壳囊孢菌群体的营养体亲和性,明确了该菌不亲和性所表现出的抗衡作用表现为相互间形成明显的色素隔离带。少数菌株配对生长时在两菌落间形成半段或较淡的色素带,这可能是菌株间存在亲和与不亲和的过渡类型,这些菌株在遗传上可能比相互间形成明显色素带的菌株间亲缘关系要近一些。从试验结果看,营养体亲和性与地理来源没有明显的相关性,这与我国一些学者<sup>[10,15]</sup>在其他真菌营养亲和性试验中的结果一致。真菌的营养体亲和性反映了真菌群体中个体差异的部分信息,其

VCG标记不仅快捷而且稳定。从本试验结果看,本试验所采用的供试菌株数量有限,其中一些菌株来自同一地区、相同杨树品种,但这些菌株却很少同属一个营养体亲和群,究竟是什么因素导致来自同一地区、相同杨树品种的同种菌株之间不亲和,还有待于进一步研究。

### 【参考文献】

- [1] 向玉英 杨树病害及其防治[M]. 北京: 中国林业出版社, 1987: 60-61.
- [2] 许志刚 普通植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 27-28.
- [3] 鲁素芸, 王寿华, 张少宏 我国棉苗根腐丝核菌的菌丝融合群与致病力观察[J]. 植物病理学报, 1990, 20(2): 122.
- [4] 杨勤忠, 郑风萍, 李云成 稻瘟病菌菌丝融合的初步研究[J]. 云南农业大学学报, 1996(11): 8-13.
- [5] 鲍建荣, 王振辰, 郑 重 尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)硝酸盐营养突变株及其营养亲和性[J]. 植物病理学报, 1992, 2(4): 329-332.
- [6] Lind M K, Lagnazio C, James B A. Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Exp Mycol, 1990, 14: 255-266.
- [7] Puhalla I E, Spieth P T. Heterokaryosis in *Fusarium moniliforme* [J]. Exp Mycol, 1983(7): 328-335.
- [8] Ogoshi A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and interspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn [J]. Annu Rev Phytopathol, 1987, 25: 125-143.
- [9] Proffer T J, Hart J H. Vegetative compatibility groups in *Leucocytophthora kunzei* [J]. Phytopathology, 1998, 78: 256-260.
- [10] 吴小芹 中国松树枯梢病菌营养体亲和性研究[J]. 林业科学, 2000, 36(1): 47-52.
- [11] 方仲达 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [12] 吴小芹 松枯梢病菌的培养性状和致病力变异及其相互关系[J]. 南京林业大学学报, 2000, 24(2): 16-20.
- [13] 梁宗琦 真菌的营养亲和性及亲和群[J]. 西南农业学报, 1995, 8(4): 98-101.
- [14] Leslie J F. Fungal vegetative compatibility [J]. Annu Rev Phytopathol, 1993, 31: 127-150.
- [15] 余仲东, 曹支敏 杨树腐烂病菌3菌株营养体亲和性的研究[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(2): 93-94.