

中国部分 Botryosphaeriaceae spp.的系统发育及优势种 Botryosphaeria dothidea 的遗传多样性研究

程燕林, 吕全, 张星耀

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

摘要: 葡萄座腔菌科(Botryosphaeriaceae)(子囊菌门 Ascomycota, 座囊菌纲 Dothideomycetes)真菌分布广泛, 种类繁多, 寄主类型多样, 在我国引起多种重要的经济树木枝条或主干发生溃疡病, 包括杨树和多种果树等。长期以来病原真菌的命名多根据病害和寄主来命名, 造成了同菌异名、同名异菌的问题, 引起了该科真菌的命名和分类混乱的问题。模式种 *Botryosphaeria dothidea* 是该科最常见的种之一, 是引起树木溃疡病最重要的病原, 在我国多个气候区均有发生, 阐明该种不同地理群体间的遗传多样性和遗传分化, 对病害的检测和防治具有重要意义。

为了澄清我国树木溃疡病病原真菌的种类和调查葡萄座腔菌科真菌在我国分布的多样性, 针对引起杨树和蔷薇科的果树病害的葡萄座腔菌科病原进行研究, 采用形态学和系统发育学的方法, 从我国南北方的 5 个典型气候区分离到 58 株寄主为杨树和 37 株寄主为蔷薇科果树的试验菌株, 结合形态学和系统发育分析方法, 鉴定葡萄座腔菌科 5 个属 8 (或 9) 种真菌。*Botryosphaeria dothidea* 种群具有较高的遗传多样性, Nei's 基因多样性指数 (H) 为 0.6777。

利用形态学结合 ITS、 β -tubulin 和 EF1- α 序列比较分析表明, 发生于杨树上的种类包括 *Botryosphaeria dothidea*、*Neofusicoccum parvum*、*Diplodia seriata*、*D. mutila*、*Dothiorella viticola* 和一个未定名新种 *Fusicoccum sp.1*, 其中, 共有 53 株为 *B. dothidea*, 其它种各 1 株; 发生于蔷薇科果树上的有 *B. dothidea*、*Lasiodiplodia pseudotheobromae*、*Neof. parvum/Neof. ribis* 复合种和另一个未定名新种 *Fusicoccum sp.2*, 其中, *B. dothidea* 15 株, *L. pseudotheobromae* 和 *Neof. parvum/Neof. ribis* 各有 3 株, *Fusicoccum sp.2* 有 6 株。上述种类中, *D. seriata* 在我国是第一次报道发生在杨树上; *Do. viticola* 是第一次报道于滇青冈。根据 β -tubulin 序列系统发育关系研究, 对 *B. rhodina* 与其无性型 *L. theobromae* 的对应关系提出质疑, 认为 *B. rhodina* 的无性型应为 *L. pseudotheobromae*。研究表明, 除了 *L.*

pseudotheobromae 只发生于南亚热带外, 其余绝大多数试验菌株在我国的分布与气候区没有直接的联系。

培养特征的比较和 LSU 序列、ITS/EF1- α 联合序列建立的系统发育关系进一步支持了两登上未定名种 *Fusicoccum* sp.1 和 *Fusicoccum* sp.2 的系统地位, 属于 *Botryosphaeria* complex。*Fusicoccum* sp.1 与 *Fusicoccum fabicercianum* 表现出最近的亲缘关系, *Fusicoccum* sp.1 和 *Fusicoccum* sp.2 与 *Botryosphaeria* complex 其它种存在着显著的培养特征上的区别: 它们的菌落均呈现环状, 且培养至第 10 天气生菌丝仍未变灰。

Botryosphaeria dothidea 为两类寄主上的优势种类, 其分布区域横跨南亚热带到中温带, 显示出对不同地理和寄主的适应性分化能力。为了分析 *B. dothidea* 种群的遗传差异和遗传多样性, 从文献记载的标记中筛选出来 10 个简单序列重要 (SSR) 标记用于分析来自 5 个种群的 77 个试验菌株进行遗传多样性和种群遗传结构, 这 5 个种群分别来自 5 个气候区: 中温带亚湿润型气候大区、暖温带亚湿润型气候大区、北亚热带湿润型气候大区、中亚热带湿润型气候大区和南亚热带湿润型气候大区。结果表明各种群的多样性指数均为中度偏高 ($H=0.6777$); 群体间的遗传分化程度较低 (平均 $F_{st}=0.0758$), 且遗传差异大多来自群体内部, 而群体间的遗传差异较小。除中温带亚湿润型气候大区种群外, 其余 4 个种群都有自己特定的等位基因, 其特有等位基因数依次为 21、2、2、3 个。77 个试验菌株构成的不同地理群体间的分化程度低, 基因流动较大, 可能与菌株来源于人为活动频繁的地区有关, 并且与寄主的反复迁移有直接关系, 尤其是杨树。杨树和蔷薇科寄主的菌株没有表现也寄主分化特征。但同时也发现了不同种群特定的等位基因, 包括北亚热带湿润型气候大区种群的 407bp 和 425bp, 中亚热带湿润型气候大区种群的 424bp 和 429bp, 南亚热带湿润型气候大区种群的 234bp、408bp 和 416bp 及暖温带亚湿润型气候大区种群的特定等位基因 313bp、333bp 等, 这对于一些潜伏于寄主组织内的特定 *B. dothidea* 地理种群的监测具有重要作用。

关键词: 葡萄座腔菌科; 壳梭孢属; SSR; 遗传多样性; 遗传分化