

## 研究报告

## 采自文冠果葡萄座腔菌科的 4 个新记录种

许蓉<sup>1,2</sup>, 谢孟乐<sup>1</sup>, 苏文鑫<sup>2</sup>, 田上卿<sup>2</sup>, 李玉<sup>\*2</sup>, Chayanard Phukhamsakda<sup>\*2,3</sup>

1 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225127

2 吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118

3 Center of Excellence in Fungal Research, Mae Fah Luang University, Chiang Rai 57100, Thailand

许蓉, 谢孟乐, 苏文鑫, 田上卿, 李玉, Chayanard Phukhamsakda. 采自文冠果葡萄座腔菌科的 4 个新记录种[J]. 微生物学通报, 2024, 51(6): 2065-2080.

XU Rong, XIE Mengle, SU Wenxin, TIAN Shangqing, LI Yu, Chayanard Phukhamsakda. Four new records of botryosphaeriacean fungi from *Xanthoceras sorbifolium*[J]. Microbiology China, 2024, 51(6): 2065-2080.

**摘要:**【背景】葡萄座腔菌科(*Botryosphaeriaceae*)真菌多为农业和林业上的主要病原菌。【目的】对吉林省长春市和四平市的文冠果微型子囊菌进行资源调查。【方法】采集标本, 结合形态特征、培养特性对其进行详细的形态学描述; 提取 DNA, 测定内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS) rDNA、核糖体大亚基(ribosomal large subunit, LSU)和翻译延伸因子-1 $\alpha$  (translation elongation factor 1-alpha, *tefl*- $\alpha$ )序列, 基于最大似然(maximum likelihood, ML)法、最大简约(maximum parsimony, MP)法和贝叶斯推导(Bayesian inference, BI)构建分子系统发育树。【结果】鉴定出 4 个葡萄座腔菌科物种: 中华葡萄座腔菌(*Botryosphaeria sinensis*)、无隔孢暗葡萄腔菌(*Phaeobotryon aplosporum*)、槭生暗葡萄腔菌(*Phaeobotryon negundinis*)和火炬树生暗葡萄腔菌(*Phaeobotryon rhois*), 4 种微型子囊菌在文冠果上均为首次报道。本文给出以上 4 个新记录种的宏观、微观和菌落形态特征的详细描述及照片。【结论】槭生暗葡萄腔菌系中国首次报道, 中华葡萄座腔菌、无隔孢暗葡萄腔菌和火炬树生暗葡萄腔菌为吉林省新记录种。

**关键词:** 葡萄座腔菌科; 文冠果; 形态; 分类

资助项目: 国家自然科学基金(32100007)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32100007).

\*Corresponding authors. E-mail: LI Yu, yuli966@126.com; Chayanard Phukhamsakda, chayanard91@gmail.com

Received: 2023-10-17; Accepted: 2023-11-25; Published online: 2024-01-05

## Four new records of botryosphaerialean fungi from *Xanthoceras sorbifolium*

XU Rong<sup>1,2</sup>, XIE Mengle<sup>1</sup>, SU Wenxin<sup>2</sup>, TIAN Shangqing<sup>2</sup>, LI Yu<sup>\*2</sup>,  
Chayanard Phukhamsakda<sup>\*2,3</sup>

1 School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, Jiangsu, China

2 Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

3 Center of Excellence in Fungal Research, Mae Fah Luang University, Chiang Rai 57100, Thailand

**Abstract:** [Background] Fungi of *Botryosphaeriaceae* are mostly major pathogens in agriculture and forestry. [Objective] To investigate the microfungi of *Ascomycota* from *Xanthoceras sorbifolium* in Changchun and Siping of Jilin province. [Methods] The specimens of microfungi were collected, and their morphology was observed and described in detail. After DNA extraction, the internal transcribed spacer (ITS) rDNA, ribosome large subunit (LSU), and translation elongation factor 1- $\alpha$  (*tef1- $\alpha$* ) of each species were sequenced. Phylogenetic trees were constructed based on maximum likelihood method, maximum parsimony method, and Bayesian inference. [Results] Four species of *Botryosphaeriaceae* were identified as *Botryosphaeria sinensis*, *Phaeobotryon aplosporium*, *Phaeobotryon negundinis*, and *Phaeobotryon rhois*, respectively. These four species of ascomycetes were reported on *Xanthoceras sorbifolium* for the first time. This paper described and illustrated the macroscopic, microscopic, and colony morphological characteristics of the above four new record species in detail. [Conclusion] *P. negundinis* was identified as a new record in China. *B. sinensis*, *P. aplosporium*, and *P. rhois* were identified as new records in Jilin.

**Keywords:** *Botryosphaeriaceae*; *Xanthoceras sorbifolium*; morphology; taxonomy

文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge)为无患子科(*Sapindaceae*)、文冠果属植物,又名崖木瓜、僧灯毛道、温旦革子,属于灌木或小乔木,是中国北方特有树种,主要分布于华北、东北、西北等地区,因其具有耐寒、耐旱、耐贫瘠等特点,常被用于水土保持、造林绿化和防风固沙等方面<sup>[1]</sup>。同时,作为油料树种,文冠果种仁含油量高达 66%,富含的植物源神经酸对心血管和自身免疫疾病有良好的效果<sup>[2]</sup>,其中亚油酸是中药益寿宁的主要成分,具有降血压的作用。然而,目前文冠果上的微型子囊菌鲜有研究,只有零星报道<sup>[3-4]</sup>,其真菌多样性及种质资

源仍有待挖掘。

葡萄座腔菌科(*Botryosphaeriaceae*)由 Theissen 和 Sydow 于 1918 建立,葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria*)为模式属<sup>[5]</sup>。该科真菌多为农业和林业上主要的病原菌,主要引起树木溃疡病;也有生于腐烂植物的腐生菌,或与植物共生的内生真菌<sup>[6-12]</sup>。葡萄座腔菌科真菌可寄生于多种寄主植物,在世界各地均有分布<sup>[13-17]</sup>。目前,葡萄座腔菌科共包含 22 属,其中葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria*)是引起多种果树和林木枝干溃疡病和果实腐烂病的病原菌,在河南、河北、北京、天津、辽宁、山东、山西、陕西、江西、

贵州、江苏、安徽、浙江、湖北、福建等地常有报道；其寄主范围较广，常见寄主有苹果、梨、桃、柑橘、葡萄、蓝莓、樱桃、猕猴桃、桉树、茶树、杨树等<sup>[18-31]</sup>，但文冠果上尚无该属真菌报道<sup>[3-4]</sup>。暗葡萄腔菌属(*Phaeobotryon*)真菌于 2015 年在中国首次报道，引起鹿角漆树(*Rhus typhina*)枯死病和溃疡病<sup>[32]</sup>。截至 2023 年，在我国北京市怀柔区、门头沟区、延庆区及宁夏回族自治区银川市共记录 4 种暗葡萄腔菌属真菌：*Phaeobotryon aplosporum*<sup>[33]</sup>、*P. rhoinum*<sup>[34]</sup>、*P. rhois*<sup>[32]</sup>和 *P. spiraeae*<sup>[35]</sup>，寄主分别为绣线菊(*Spiraea salicifolia*)、鹿角漆树(*Rhus typhina*)、丁香(*Syzygium aromaticum*)、穿龙薯蓣(*Dioscorea nipponica*)、侧柏(*Platycladus orientalis*)和鼠李(*Rhamnus davurica*)。

本研究对在吉林省长春市和四平市采集获得的文冠果枝干标本进行分类学鉴定，旨在明确吉林省文冠果微型子囊菌物种资源多样性及分布特性，以期为微型子囊菌资源利用和保护提供重要理论依据和经验积累。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

文冠果枯枝采自吉林省长春市吉林农业大学校园内及吉林省四平市梨树县国有林总场文冠果种植基地，均保存于吉林农业大学菌物标本馆(The Herbarium of Mycology, Jilin Agricultural University, HMJAU)。采用单孢分离法获得纯培养物<sup>[36]</sup>，挑取萌发的孢子转移至 PDA 培养基中，于 25 °C 黑暗条件下培养，分离纯化后的菌株保存于吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心(The International Cooperation Research Center of China for New Germplasm Breeding of Edible Mushrooms Culture Collection, CCMJ)。

### 1.2 培养基

PDA 培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂粉 16.0, 121 °C 灭菌 30 min。

### 1.3 主要试剂和仪器

基因组 DNA 提取试剂盒和 2×*Es Taq* Master Mix (Dye)，江苏康为世纪生物科技股份有限公司。立体显微镜和光学显微镜，卡尔蔡司光学(中国)有限公司；PCR 仪，Bio-Rad 公司。

### 1.4 形态学特征

使用立体显微镜观察子囊果和分生孢子器的形态特征。显微结构的观察是以蒸馏水为浮载剂进行手工切片，使用光学显微镜对子囊、子囊孢子、产孢细胞及分生孢子的形态、颜色、表面纹饰、大小等特征进行观察并拍照。

### 1.5 分子系统学特征

分离纯化获得的菌株于 25 °C 培养 2 周后，利用基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组总 DNA，扩增内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)、核糖体大亚基(ribosomal large subunit, LSU)和翻译延伸因子(translation elongation factor 1- $\alpha$ , *tef1- $\alpha$* )，所用引物序列如表 1 所示。PCR 反应体系：上、下游引物(10  $\mu$ mol/L) 0.3  $\mu$ L，

表 1 本研究中采用的 PCR 引物

Table 1 The PCR primers used in this study

引物 Primer	引物序列 Primer sequence (5'→3')	参考文献 Reference
ITS		
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	[37]
ITS5	GGTGAGAGATTCTGTGC	
LSU		
LR0R	ACCCGCTGAACTTAAGC	[38]
LR5	ATCCTGAGGGAACTTC	
<i>tef1-α</i>		
688F	CGGTCACCTTGATCTACAAGTGC	[39]
1251R	CCTCGAACTCACCAGTACCG	

2×*Es Taq* Master Mix (Dye) 10 μL, 模板(10 ng/μL) 1 μL, 无菌水补足 20 μL。PCR 反应条件 (ITS/LSU/*tefl*-α): 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 53 °C 45 s, 72 °C 90 s, 35 个循环; 72 °C 10 min。PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测, 确认合格后由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

使用 BioEdit v.7.2.5<sup>[40]</sup>读取测序所获得的序列峰图, 将自测序列在 NCBI 公共数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行 BLAST 在线比对, 选取并下载同源序列。使用 MAFFT v7.0 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>)对序列进行自动对齐<sup>[41]</sup>, 并用 AliView 软件手动矫正无法对齐的序列<sup>[42]</sup>。利用 PAUP 4.0 进行最大简约 (maximum parsimony, MP)分析<sup>[43]</sup>, 在 CIPRES 门户网站上分别使用 RAxML-HPC2 和 MrBayes v3.2.6 进行最大似然 (maximum likelihood, ML) 分析<sup>[44-45]</sup>和贝叶斯推导 (Bayesian inference, BI) 分析<sup>[46]</sup>。使用 FigTree v1.4 软件 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 中华葡萄座腔菌 *Botryosphaeria sinensis* Y.P. Zhou & Y. Zhang ter in Phytotaxa 245(1): 45 (2016).

形态见图 1、图 2, 系统学位置见图 3。

有性型: 腐生于文冠果枯枝上, 子囊果半埋生, 成熟后撑破枝干表皮; 子囊果 (204–240) μm×(178–242) μm ( $\bar{x}$ =219 μm×205 μm,  $n$ =5), 球形至近球形, 聚生或单生, 褐色至黑色, 具孔口; 包被厚 28–71 μm, 类皮质, 由 5–12 层细胞组织构成, 外层组织由深棕色、胞壁较厚的细胞按照角胞组织的形式排列构成, 由外向内细胞着色变浅且胞壁变薄; 侧丝宽

2–4 μm, 有隔膜, 在隔膜处收缩, 少分枝; 子囊 (78–120) μm×(12–22) μm ( $\bar{x}$ =100.5 μm×18.0 μm,  $n$ =20), 具双层囊壁, 含 8 个子囊孢子, 宽棍棒状, 顶端呈圆形, 1–2 个孢子连续排列在子囊内; 子囊孢子 (17–27) μm×(5–12) μm ( $\bar{x}$ =22.4 μm×9.5 μm,  $n$ =50), 长宽比 ( $L/W$ =2.4), 梭形至椭圆形, 在上三分之一或中部最宽, 顶端钝, 有时有锥形末端, 细胞壁光滑, 无色透明, 无隔膜, 孢子内有颗粒状小球。

无性型: 腐生于文冠果枯枝上, 半埋生, 成熟后撑破枝干表皮, 球形至近球形, 聚生或单生, 褐色至黑色, 直径为 330–370 μm; 子实体包被厚 25–41 μm, 类皮质, 由 5–15 层浅棕色至深棕色细胞按照角胞组织的形式排列构成, 细胞由内向外颜色逐渐变深; 分生孢子梗不明显或退化为产孢细胞, 产孢细胞 (9–32) μm×(1.0–2.7) μm ( $\bar{x}$ =18.0 μm×1.8 μm,  $n$ =20), 全壁芽生, 亚圆柱形, 直立或弯曲, 无色透明, 光滑; 分生孢子 (18–35) μm×(5.0–8.5) μm ( $\bar{x}$ =28.0 μm×7.2 μm,  $n$ =50), 长宽比 ( $L/W$ =3.9), 纺锤形, 顶端钝, 无色透明, 无隔膜, 光滑, 孢子内有颗粒状小球; 成熟后的分生孢子浅棕色, 圆柱形, 光滑, 具 1–2 个隔膜。

有性型菌落特征: 菌落生长速度较快, 在 PDA 培养基上 25 °C 条件下培养, 生长第 4 天直径达 6 cm。菌落初期呈白色, 气生菌丝, 边缘整齐; 后期菌丝呈墨绿色至黑色, 有油滴产生, 菌落反面呈放射状, 中间呈黑色, 边缘菌丝墨绿色。

无性型菌落特征: 菌落生长速度一般, 在 PDA 培养基上 25 °C 条件下培养, 生长 4 d 直径达 3.7 cm。菌落初期呈白色, 菌丝稀疏; 后期菌丝呈墨绿色至黑色, 菌落反面呈放射状, 中间呈黑色, 边缘菌丝墨绿色。

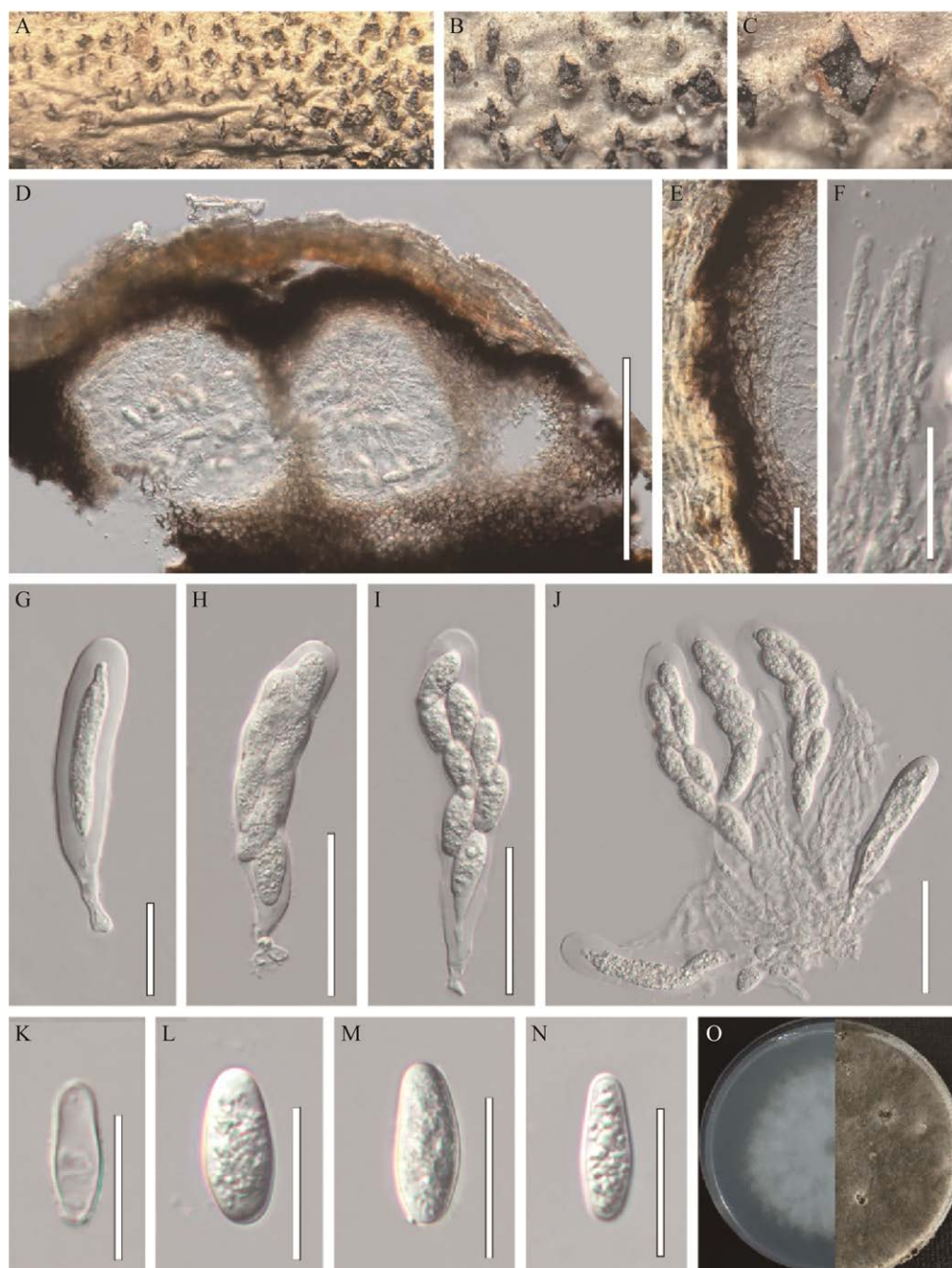
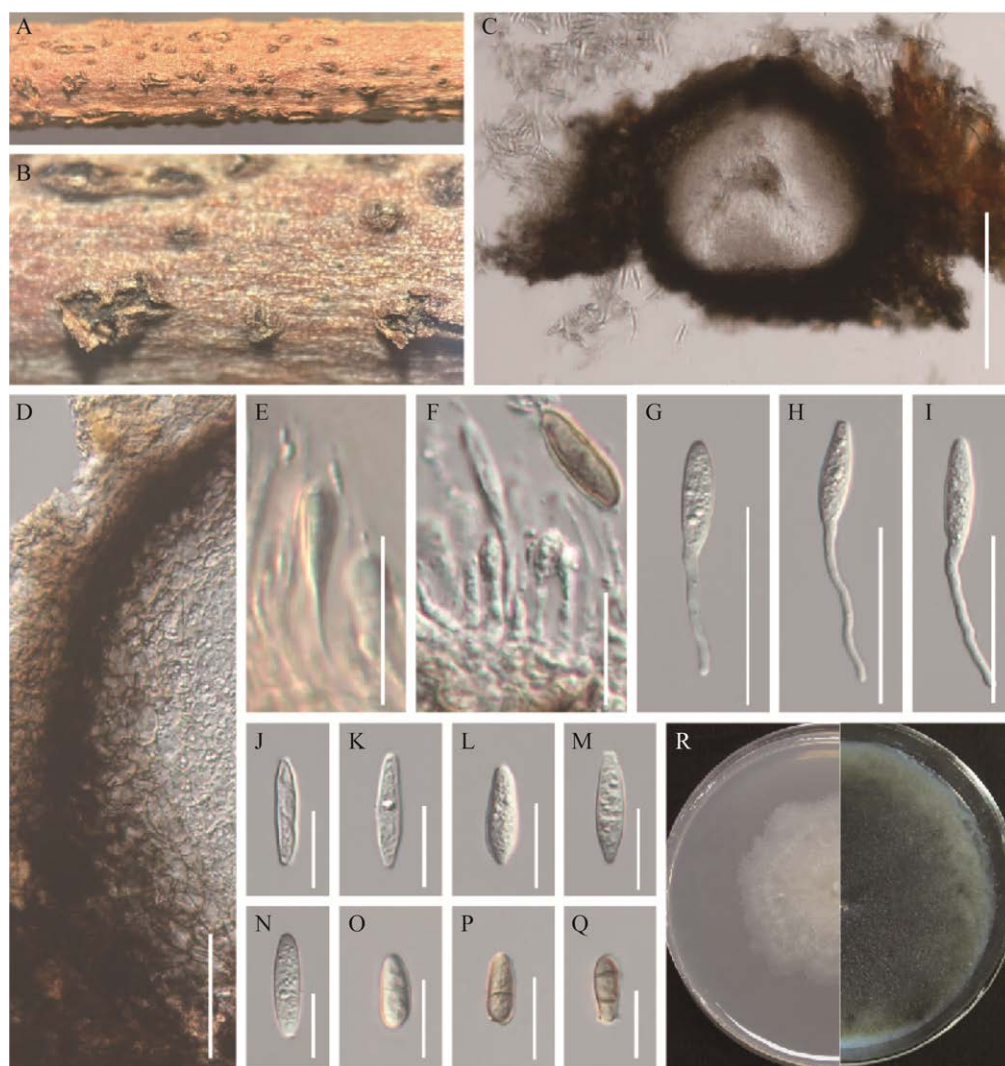


图 1 中华葡萄座腔菌的有性型形态图(HMJAU 64805) A–C: 文冠果枯枝上的子囊果. D: 子囊果的纵切面. E: 子囊果的壁. F: 拟侧丝. G–J: 子囊. K–N: 子囊孢子. O: 中华葡萄座腔文冠果枯枝上的子囊果菌在 PDA 上的培养形态(左侧培养 4 d, 右侧培养 20 d). 标尺: D 为 200  $\mu\text{m}$ ; H–J 为 50  $\mu\text{m}$ ; E–G 和 K–N 为 20  $\mu\text{m}$

Figure 1 Sexual morphology of *Botryosphaeria sinensis* (HMJAU 64805). A–C: Appearance of ascomata on host substrate. D: Vertical section of ascomata. E: Partial peridium wall. F: Pseudoparaphyses. G–J: Asci. K–N: Ascospores. O: Culture characteristics on PDA after 4 d (left) and 20 d (right). Scale bars: D, 200  $\mu\text{m}$ ; H–J, 50  $\mu\text{m}$ ; E–G and K–N, 20  $\mu\text{m}$ .





**图 2 中华葡萄座腔菌的无性型形态图(HMJAU 64804)** A 和 B: 文冠果枯枝上的分生孢子器. C: 分生孢子器的纵切面. D: 分生孢子器的壁. E-I: 产孢细胞及分生孢子. J-Q: 分生孢子. R: 中华葡萄座腔菌在 PDA 上的培养形态(左侧培养 4 d, 右侧培养 20 d). 标尺: C 为 200  $\mu\text{m}$ ; D、G-I 为 50  $\mu\text{m}$ ; E、F 和 J-Q 为 20  $\mu\text{m}$

Figure 2 Asexual morphology of *Botryosphaeria sinensis* (HMJAU 64804). A and B: Appearance of conidiomata on host substrate. C: Vertical section of conidiomata. D: Section of conidioma wall. E-I: Conidiogenous cells and conidia. J-Q: Conidia. R: Culture characteristics on PDA after 4 d (left) and 20 d (right). Scale bars: C, 200  $\mu\text{m}$ ; D and G-I, 50  $\mu\text{m}$ ; E-F and J-Q, 20  $\mu\text{m}$ .

标本信息: 采集时间: 2021 年 8 月 12 日, 采集人: 许蓉, 采集地点: 吉林省四平市梨树县国有林总场文冠果科研基地, 采自文冠果枯枝, 标本号为 HMJAU 64804, 菌株号为 CCMJ 13036 (ITS、LSU 和 *tefl- $\alpha$*  的 GenBank 登录号

分别为 OQ846791、OQ845867 和 OQ980395); 采集时间: 2021 年 10 月 18 日; 采集人: 许蓉; 采集地点: 吉林省长春市净月潭国家森林公园, 采自文冠果枯枝; 标本号为 HMJAU 64805; 菌株号为 CCMJ 13037 (ITS、LSU 和 *tefl- $\alpha$*

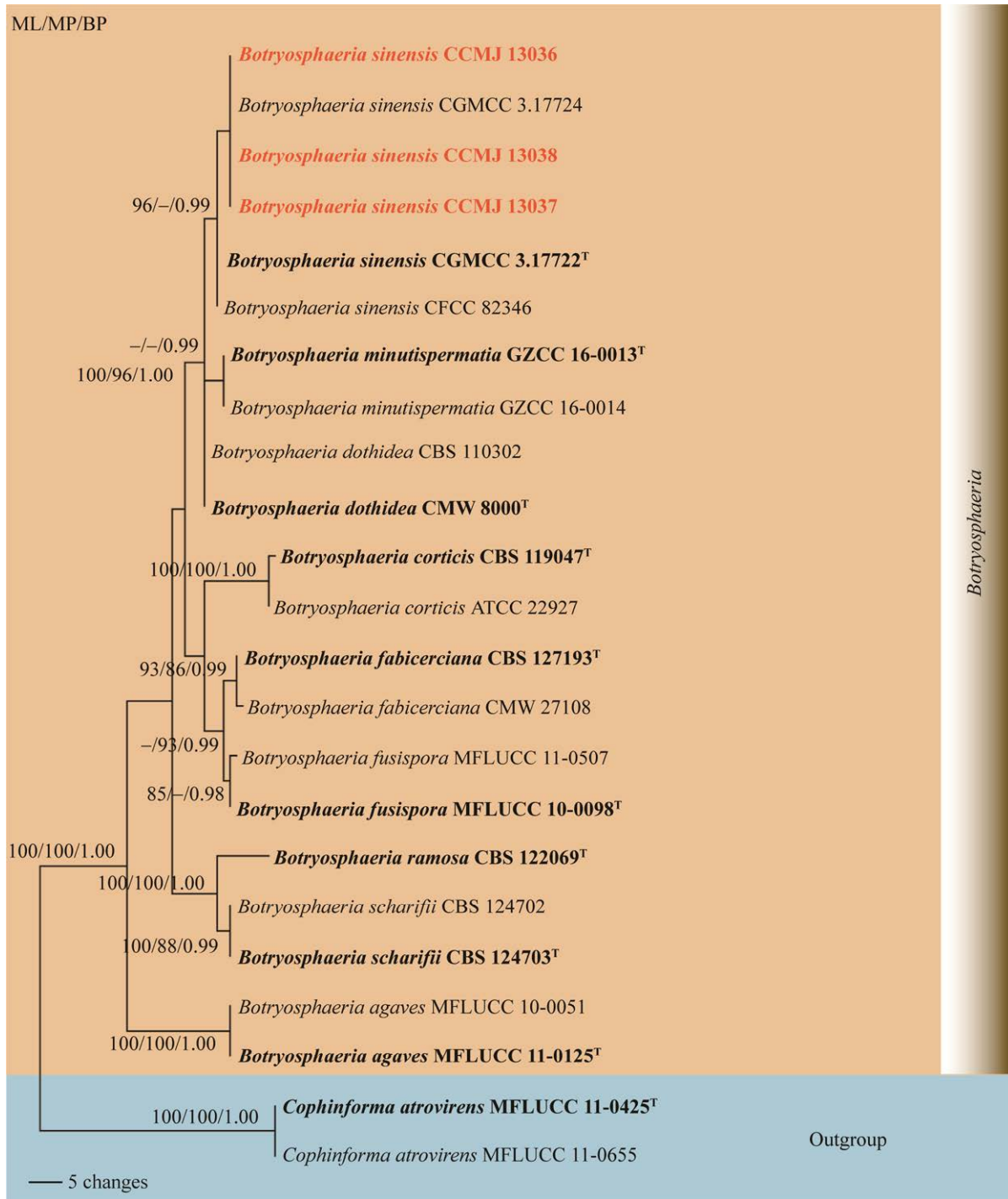


图 3 基于 ITS+LSU+*tef1-α* 序列的葡萄座腔菌属系统发育树 最大似然法支持率≥70%、最大简约法支持率≥70%及贝叶斯后验概率≥0.9 标示在分支节点

Figure 3 Phylogenetic analysis of *Botryosphaeria* based on ITS, LSU and *tef1-α* genes. Maximum likelihood bootstrap support values ≥70% (ML), maximum parsimony bootstrap support values ≥70% (MP) and Bayesian posterior probabilities ≥0.9 (BYPP) are given at the nodes as ML/MP/BYPP.

GenBank 登录号分别为 OQ846792、OQ845868 和 OQ980396); 采集时间: 2021 年 10 月 31 日; 采集人: 许蓉; 采集地点: 吉林省长春市吉林农业大学校园内, 采自文冠果枯枝; 标本号为 HMJAU 64806; 菌株号为 CCMJ 13038 (ITS、LSU 和 *tefl-α* 的 GenBank 登录号分别为 OQ846793、OQ845869 和 OQ980397)。

世界分布: 中国。

国内分布: 河南省<sup>[31]</sup>、贵州省<sup>[18]</sup>和吉林省。

## 2.2 无隔孢暗葡萄腔菌 *Phaeobotryon aplosporum* M. Pan & X.L. Fan in Mycol. Progr. 18(11): 1356 (2019).

形态见图 4, 系统学位置见图 5。

有性型: 未发现。

无性型: 腐生于文冠果枯枝上, 分生孢子器 (160.5–248.0)  $\mu\text{m} \times$  (122–238)  $\mu\text{m}$  ( $\bar{x}$  = 210  $\mu\text{m} \times$  164  $\mu\text{m}$ ,  $n$  = 5), 半埋生, 成熟后撑破枝干表皮, 散生或聚生, 多腔室, 深褐色至黑色, 球形至近球形, 具圆形或卵形孔口。分生孢子器的壁厚 17–50  $\mu\text{m}$ , 由 8–15 层棕色至深棕色细胞按照角胞组织的形式排列构成, 细胞由内向外颜色逐渐变深。分生孢子梗完全退化为产孢细胞, 产孢细胞 (10.8–30.5)  $\mu\text{m} \times$  (1.8–6.2)  $\mu\text{m}$  ( $\bar{x}$  = 20.0  $\mu\text{m} \times$  3.3  $\mu\text{m}$ ,  $n$  = 20), 透明, 壁光滑且较薄, 圆柱形至棒状; 分生孢子 (15.8–21.5)  $\mu\text{m} \times$  (4.5–9.0)  $\mu\text{m}$  ( $\bar{x}$  = 18.6  $\mu\text{m} \times$  6.5  $\mu\text{m}$ ,  $n$  = 50), 透明, 光滑, 椭圆形至长椭圆形, 亚圆柱形至倒卵形, 无隔膜, 孢子内有油滴, 无附属物, 成熟时变成棕黄色。

菌落特征: 菌落生长速度较快, 在 PDA 培养基上 25  $^{\circ}\text{C}$  条件下, 生长 4 d 直径达 4.8 cm。菌落初期呈白色, 边缘整齐, 后期菌丝呈灰褐色, 菌丝柔软致密, 形成白色无菌贴伏菌丝垫, 菌落反面同样呈灰褐色。

标本信息: 采集时间: 2021 年 8 月 12 日; 采集人: 许蓉; 采集地点: 吉林省四平市梨树县国有林总场文冠果科研基地, 采自文冠果枯

枝; 标本号为 HMJAU 64807; 菌株号为 CCMJ 13039 (ITS、LSU 的 GenBank 登录号分别为 OQ846794、OQ845870)。

世界分布: 中国。

国内分布: 北京市<sup>[33]</sup>、吉林省。

## 2.3 槭生暗葡萄腔菌 *Phaeobotryon negundinis* Daranag., Bulgakov & K.D. Hyde, in Mycosphere 7(7): 936 (2016).

形态见图 6, 系统学位置见图 5。

有性型: 未发现。

无性型: 腐生于文冠果枯枝上, 分生孢子器 (175–343)  $\times$  (250–400)  $\mu\text{m}$  ( $\bar{x}$  = 367  $\times$  332  $\mu\text{m}$ ,  $n$  = 5), 半埋生, 成熟后撑破枝干表皮, 单生, 散生, 黑色, 单腔室, 球形至近球形, 具孔口。分生孢子器的壁厚 22–60  $\mu\text{m}$ , 由 5–9 层浅棕色至深棕色细胞按照角胞组织的形式排列构成, 细胞由内向外颜色逐渐变深。分生孢子梗完全退化为产孢细胞, 产孢细胞透明至浅棕色, 光滑, 全壁芽生, 亚圆柱形, 大小为 (10–17)  $\mu\text{m} \times$  (1.3–3.2)  $\mu\text{m}$  ( $\bar{x}$  = 13.3  $\mu\text{m} \times$  2.4  $\mu\text{m}$ ,  $n$  = 20)。分生孢子 (19–25)  $\mu\text{m} \times$  (7.7–10.7)  $\mu\text{m}$  ( $\bar{x}$  = 22.2  $\mu\text{m} \times$  8.7  $\mu\text{m}$ ,  $n$  = 50), 透明, 卵圆形, 顶端宽圆形, 基部截形, 无隔膜, 成熟后变成棕黄色, 孢子内有油滴, 光滑, 无附属物。

菌落特征: 菌落生长速度较快, 在 PDA 培养基上 25  $^{\circ}\text{C}$  条件下, 生长 4 d 直径达 6.7 cm。菌落初期呈白色, 中间菌丝稀疏, 边缘整齐、较密; 后期菌丝乳白色, 致密, 棉絮状。

标本信息: 采集时间: 2022 年 7 月 2 日; 采集人: 许蓉; 采集地点: 吉林省长春市吉林农业大学校园内, 采自文冠果枯枝; 标本号为 HMJAU 64808; 菌株号为 CCMJ 13040 (ITS、LSU 和 *tefl-α* 的 GenBank 登录号分别为 OQ846795、OQ845871 和 OQ980398)。

世界分布: 中国、俄罗斯<sup>[47]</sup>。

国内分布: 吉林省。



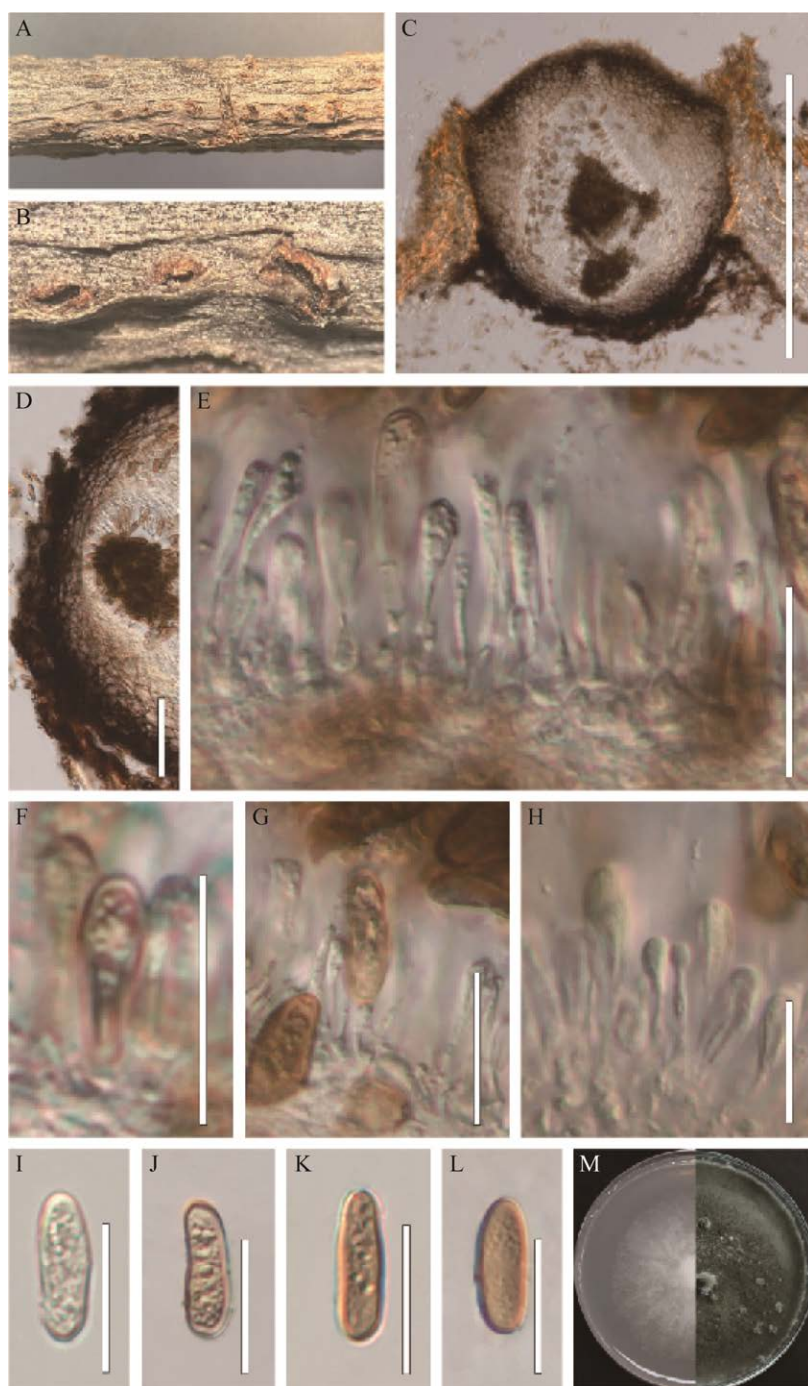


图 4 无隔孢暗葡萄腔菌(HMJAU 64807) A 和 B: 文冠果枯枝上的分生孢子器. C: 分生孢子器的纵切面. D: 分生孢子器的壁. E-H: 产孢细胞及分生孢子. I-L: 分生孢子. M: 无隔孢暗葡萄腔菌在 PDA 上的培养形态(左侧培养 4 d, 右侧培养 20 d). 标尺: C 为 500  $\mu\text{m}$ ; D 为 50  $\mu\text{m}$ ; E-L 为 20  $\mu\text{m}$

Figure 4 Morphology of *Phaeobotryon aplosporum* (HMJAU 64807). A and B: Appearance of conidiomata on host substrate. C: Vertical section of conidiomata. D: Section of conidioma wall. E-H: Conidiogenous cells and conidia. I-L: Conidia. M: Culture characteristics on PDA after 4 d (left) and 20 d (right). Scale bars: C, 500  $\mu\text{m}$ ; D, 50  $\mu\text{m}$ ; E-L, 20  $\mu\text{m}$ .

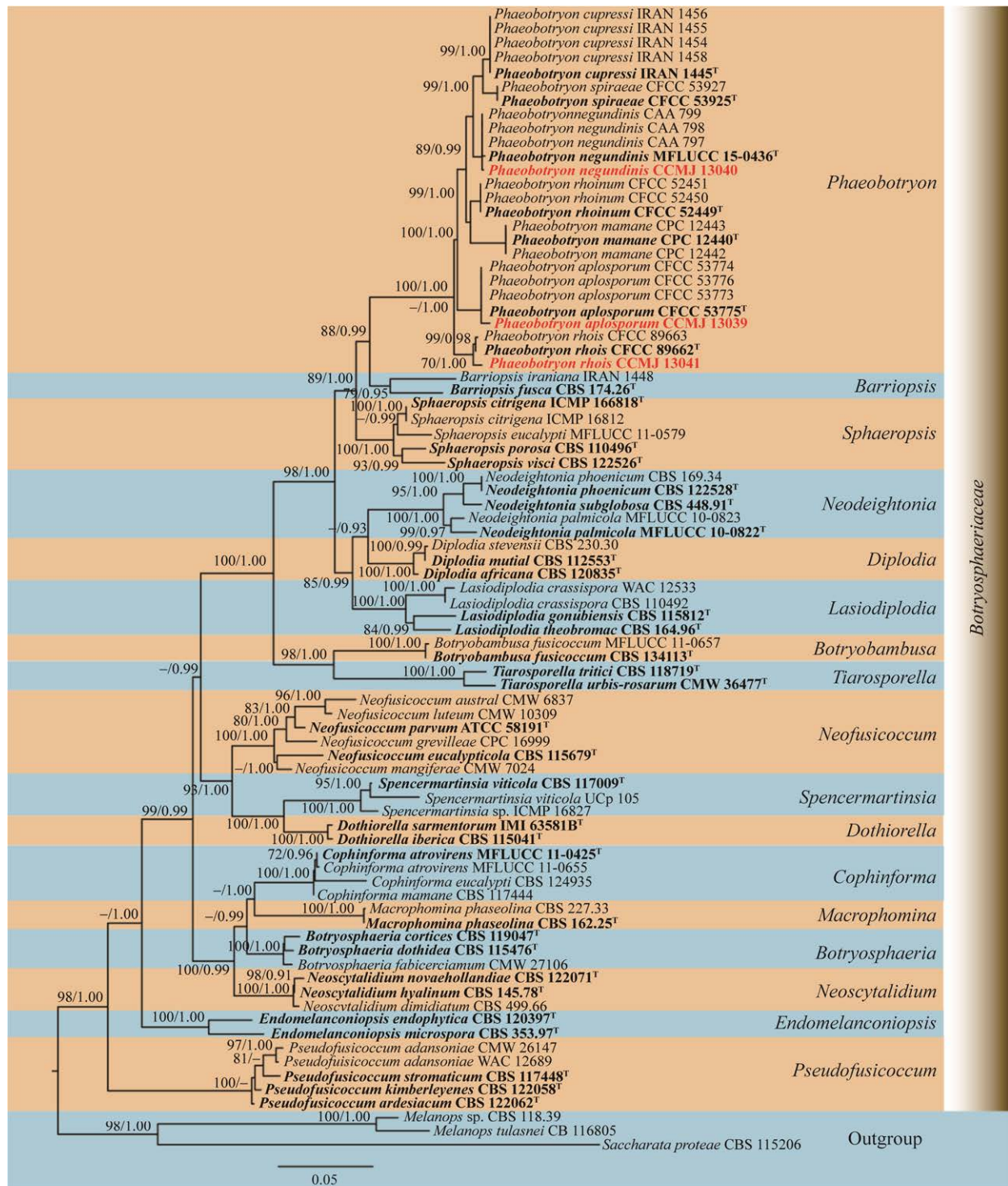


图5 基于 ITS+LSU+*tef1-α* 序列的暗葡萄腔菌属系统发育树 最大似然法支持率 $\geq 70\%$ 及贝叶斯后验概率 $\geq 0.9$ 标示在分支节点, 模式菌株用粗体和“T”标记, 本研究分离的菌株用粗体标记

Figure 5 Phylogenetic analysis of *Phaeobotryon* based on ITS, LSU and *tef1-α* genes. Maximum likelihood bootstrap support values  $\geq 70\%$  (ML) and Bayesian posterior probabilities  $\geq 0.9$  (BYPP) are given at the nodes as ML/MP/BYPP. The type strains are in bold and marked with “T”. The new isolates are in bold.



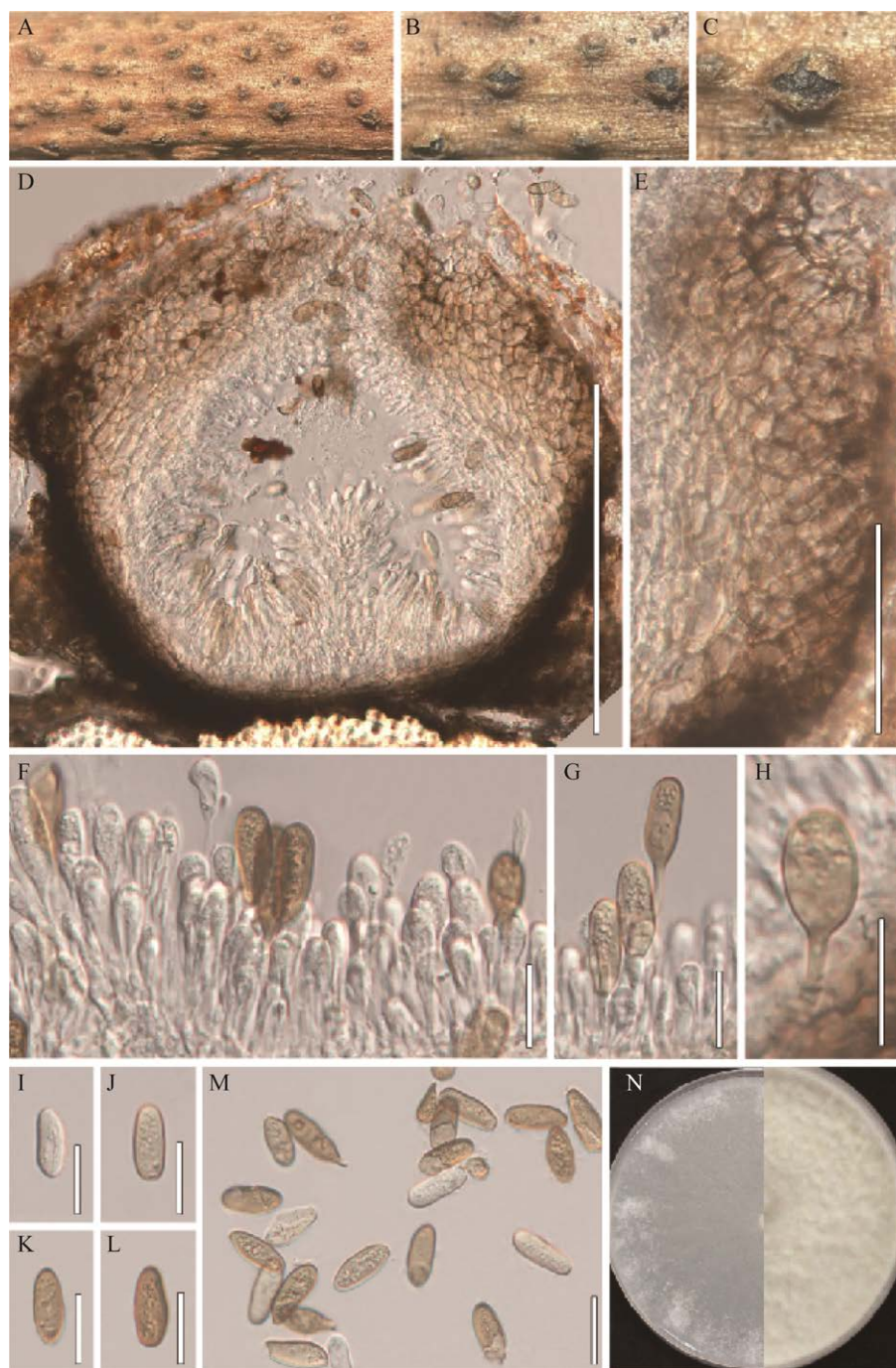


图 6 槭生暗葡萄腔菌的形态图(HMJAU 64808) A–C: 文冠果枯枝上的分生孢子器. D: 分生孢子器的纵切面. E: 分生孢子器的壁. F–H: 产孢细胞及分生孢子. I–M: 分生孢子. N: 槭生暗葡萄腔菌在 PDA 上的培养形态(左侧培养 4 d, 右侧培养 20 d). 标尺: D 为 200  $\mu\text{m}$ ; E 为 50  $\mu\text{m}$ ; F–M 为 20  $\mu\text{m}$

Figure 6 Morphology of *Phaeobotryon negundinis* (HMJAU 64808). A–C: Appearance of conidiomata on host substrate. D: Vertical section of conidiomata. E: Section of conidioma wall. F–H: Conidiogenous cells and conidia. I–M: Conidia. N: Culture characteristics on PDA after 4 d (left) and 20 d (right). Scale bars: D, 200  $\mu\text{m}$ ; E, 50  $\mu\text{m}$ ; F–M, 20  $\mu\text{m}$ .

## 2.4 火炬树生暗葡萄腔菌 *Phaeobotryon rhois* C.M. Tian, X.L. Fan & K.D. Hyde, in *Phytotaxa* 205(2): 95 (2015).

形态见图 7, 系统学位置见图 5。

有性型: 未发现。

无性型: 腐生于文冠果枯枝上, 分生孢子器  $(150-190) \times (140-160) \mu\text{m}$  ( $\bar{x}=172 \times 150 \mu\text{m}$ ,  $n=5$ ), 半埋生, 成熟后撑破枝干表皮, 聚生或散生, 深棕色至黑色, 单腔室, 球形, 具孔口。分生孢子器的壁厚  $23-47 \mu\text{m}$ , 由 3-6 层浅棕色细胞按照角胞组织的形式排列构成。分生孢子梗完全退化为产孢细胞, 产孢细胞透明, 光滑, 由排列在腔室内壁的细胞形成, 大小  $(9.0-12.6) \times (2.2-3.4) \mu\text{m}$  ( $\bar{x}=10.8 \times 2.9 \mu\text{m}$ ,  $n=15$ )。分生孢子  $(17-35) \mu\text{m} \times (9-15) \mu\text{m}$  ( $\bar{x}=22.5 \times 12.0 \mu\text{m}$ ,  $n=50$ ), 初期透明, 无隔膜, 葫芦形, 椭圆形至长圆形或亚圆柱形, 光滑至有小疣突, 末端圆形, 成熟时变为深棕色, 具 1 个隔膜, 在隔膜处稍缢缩, 孢子内有油滴。

菌落特征: 菌落生长速度较快, 在 PDA 培养基上  $25^\circ\text{C}$  条件下, 生长 4 d 直径达 7 cm。菌落初期呈白色, 菌丝稀疏, 边缘整齐; 后期菌丝呈深绿色至黑色, 气生菌丝, 中间有贴伏的菌丝垫。

标本信息: 采集时间: 2022 年 7 月 2 日; 采集人: 许蓉; 采集地点: 吉林省长春市吉林农业大学校园内, 采自文冠果枯枝; 标本号为 HMJAU 64809; 菌株号为 CCMJ 13041 (ITS、LSU 和 *tef1- $\alpha$*  的 GenBank 登录号分别为 OQ846796、OQ845872 和 OQ980399)。

世界分布: 中国。

国内分布: 宁夏回族自治区<sup>[32]</sup>、北京市<sup>[33-34]</sup>和吉林省。

## 3 讨论与结论

中华葡萄座腔菌(*B. sinensis*)最早由 Zhou

等<sup>[31]</sup>报道, 采集自河南省的桃树、桑树和杨树上。2020 年, 陈娅娅在贵州省的桃树和禾本科植物标本上分离得到中华葡萄座腔菌<sup>[18]</sup>。本研究从吉林省文冠果上采集的标本与陈娅娅<sup>[18]</sup>、Zhou 等<sup>[31]</sup>描述的形态相似, 根据系统发育树, 本研究分离到的 3 株菌株与 *B. sinensis* 聚为一支且具有较高的支持率(图 3), 因此鉴定为中华葡萄座腔菌(*B. sinensis*)。该种首次在吉林省的文冠果上发现, 扩大了中华葡萄座腔菌在中国的分布范围。

无隔孢暗葡萄腔菌(*P. aplosporum*)是 Pan 等<sup>[33]</sup>于 2019 年报道的一个新种, 引起鹿角漆树(*Rhus typhina*)溃疡病害, 系统发育分析显示, 菌株 CCMJ 13039 与无隔孢暗葡萄腔菌聚集在一个分支, 与模式菌株(CFCC 53775)的 ITS 序列(446/446)和 LSU 序列完全一致(814/814)。从形态上看, CCMJ 13039 与无隔孢暗葡萄腔菌的分生孢子大小相似( $17-19 \mu\text{m} \times (5.5-7.0) \mu\text{m}$  vs.  $(15.8-21.5) \mu\text{m} \times (4.5-9.0) \mu\text{m}$ , 且均无隔膜<sup>[46]</sup>)。因此, 将其鉴定为无隔孢暗葡萄腔菌(*P. aplosporum*)。

Daranagama 等在俄罗斯罗斯托夫地区的桤叶槭(*Acer negundo*)、金钟连翘(*Forsythia intermedia*)和女贞(*Ligustrum vulgare*)上首次报道了槭生暗葡萄腔菌(*P. negundinis*), 虽然该菌与植株枝干、叶片上的病害症状有关, 但致病性尚未得到证实<sup>[47]</sup>。系统发育分析显示, 菌株 CCMJ 13040 与槭生暗葡萄腔菌以较高的支持率(89/0.99)聚为一支, 且形态特征相似。Daranagama 等<sup>[47]</sup>认为(*P. cupressi*)与(*P. negundinis*)二者的主要区别在于(*P. negundinis*)的分生孢子略小( $24.1-25.0 \mu\text{m} \times (12.2-12.5) \mu\text{m}$  vs.  $(16.0-24.5) \mu\text{m} \times (7.9-11.5) \mu\text{m}$ , 本研究分离得到的 CCMJ 13040 符合这一特征 $[(19-25) \mu\text{m} \times (7.7-10.7) \mu\text{m}]$ , 依据其主要形态特征及系统分析结果鉴定该种为槭生暗葡萄腔

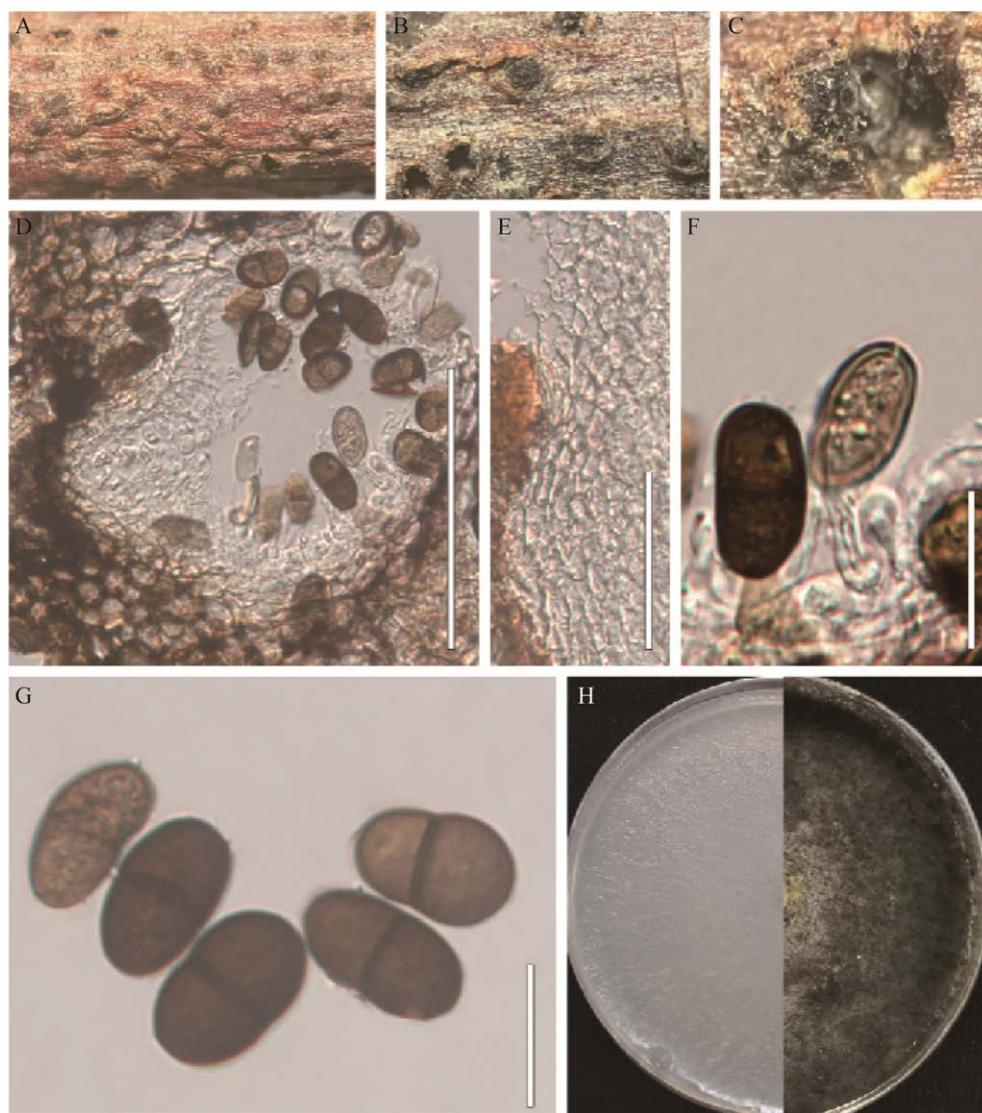


图 7 火炬树生暗葡萄腔菌(HMJAU 64809) A–C: 文冠果枯枝上的分生孢子器. D: 分生孢子器的纵切面. E: 分生孢子器的壁. F: 产孢细胞及分生孢子. G: 分生孢子. H: 火炬树生暗葡萄腔菌在 PDA 上的培养形态(左侧培养 4 d, 右侧培养 20 d). 标尺: D 为 100  $\mu\text{m}$ ; E 为 50  $\mu\text{m}$ ; F–G 为 20  $\mu\text{m}$

Figure 7 Morphology of *Phaeobotryon rhois* (HMJAU 64809). A–C: Appearance of conidiomata on host substrate. D: Vertical section of conidiomata. E: Section of conidioma wall. F: Conidiogenous cells and conidia. G: Conidia. H: Culture characteristics on PDA after 4 d (left) and 20 d (right). Scale bars: D, 100  $\mu\text{m}$ ; E, 50  $\mu\text{m}$ ; F–G, 20  $\mu\text{m}$ .

菌(*P. negundinis*), 本研究新增了该种在中国的地理分布。

目前, 火炬树生暗葡萄腔菌(*P. rhois*)主要引起鹿角漆树、穿龙薯蓣、侧柏和鼠李的溃疡病和枯死病, 且仅在中国有报道<sup>[32–34]</sup>。菌株

CCMJ 13041 与火炬树生暗葡萄腔菌的形态相似, 分生孢子初期透明, 成熟后变为深棕色, 具 1 个隔膜。系统发育分析结果显示, 菌株 CCMJ 13041 以较高的支持率(ML/BI=70/1.00)与模式菌株(*P. rhois*) CFCC 89662 聚为“姊妹”支。



因而,将其鉴定为火炬树生暗葡萄腔菌(*P. rhois*)。

除了中华葡萄座腔菌(*B. sinensis*)和槭生暗葡萄腔菌(*P. negundinis*)外,另外两种真菌均可引起树木溃疡病或枯死病,这与前人报道的葡萄座腔菌科大多为农业和林业上重要的病原菌且主要为树木溃疡病病原菌的报道一致<sup>[6-12]</sup>。本文从文冠果枝干上分离到这4种真菌,对其分类学进行深入研究,丰富了文冠果上微型子囊菌物种多样性及种质资源,扩大了葡萄座腔菌科物种的地理分布。后续研究还需要通过致病性测定验证4种真菌是否具有致病力,明确真菌的生物学特征,为文冠果溃疡病的发生及防治提供理论依据。

## REFERENCES

- [1] 王艺林, 吕东, 刘建海, 赵国生. 甘肃省河西走廊干旱荒漠区文冠果不同种源造林效果[J]. 河北林果研究, 2016, 31(4): 370-373.  
WANG YL, LÜ D, LIU JH, ZHAO GS. Planting effect of *Xanthoceras sorbifolia* from different provenances in Hexi Corridor of Gansu Province arid desert area[J]. Hebei Journal of Forestry and Orchard Research, 2016, 31(4): 370-373 (in Chinese).
- [2] ZANG EH, QIU B, CHEN N, LI CF, LIU Q, ZHANG M, LIU YC, LI MH. *Xanthoceras sorbifolium* Bunge: a review on botany, phytochemistry, pharmacology, and applications[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 708549.
- [3] 张丙红. 文冠果颈腐病病原菌的分离鉴定[D]. 泰安: 山东农业大学硕士论文, 2021.  
ZHANG BH. Isolation and identification of pathogenic bacteria causing crown rot of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [4] XU R, SU WX, TIAN SQ, BHUNJUN CS, TIBPROMMA S, HYDE KD, LI Y, PHUKHAMSAKDA C. Synopsis of *Leptosphaeriaceae* and introduction of three new taxa and one new record from China[J]. Journal of Fungi (Basel, Switzerland), 2022, 8(5): 416.
- [5] THEISSEN F, SYDOW H. Vorentwürfe zu den *Pseudosphaeriales*[J]. Annales Mycologici, 1918, 16: 1-34.
- [6] 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(自然科学版), 2001, 25(1): 61-66.  
WU XQ, HE YQ, LIU ZH. Occurrence and progress on tree cankers caused by *Botryosphaeria* spp.[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2001, 25(1): 61-66 (in Chinese).
- [7] 李文英, 李夏, 解开治, 邓旺秋, 庄文颖. 葡萄座腔菌科真菌的系统学和多样性探讨[J]. 生物多样性, 2017, 25(8): 874-885.  
LI WY, LI X, XIE KZ, DENG WQ, ZHUANG WY. Systematics and species diversity of botryosphaeriaceous fungi[J]. Biodiversity Science, 2017, 25(8): 874-885 (in Chinese).
- [8] SLIPPERS B, WINGFELD MJ. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact[J]. Fungal Biology Reviews, 2007, 21(2/3): 90-106.
- [9] 程燕林, 梁军, 吕全, 张星耀. 葡萄座腔菌科研究进展: 鉴定, 系统发育学和分子生态学[J]. 生态学报, 2011, 31(11): 3197-3207.  
CHENG YL, LIANG J, LÜ Q, ZHANG XY. Advances in *Botryosphaeriaceae*: identification, phylogeny and molecular ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(11): 3197-3207 (in Chinese).
- [10] MEHL JWM, SLIPPERS B, ROUX J, WINGFIELD MJ. *Botryosphaeriaceae* associated with die-back of *Schizolobium parahyba* trees in South Africa and Ecuador[J]. Forest Pathology, 2014, 44(5): 396-408.
- [11] MANAWASINGHE IS, PHILLIPS AJL, HYDE KD, CHETHANA KWT, ZHANG W, ZHAO WS, YAN JY, LI XH. Mycosphere essays 14: assessing the aggressiveness of plant pathogenic *Botryosphaeriaceae*[J]. Mycosphere, 2016, 7(7): 883-892.
- [12] TIBPROMMA S, HYDE KD, MCKENZIE EHC, BHAT DJ, PHILLIPS AJL, WANASINGHE DN, SAMARAKOON MC, JAYAWARDENA RS, DISSANAYAKE AJ, TENNAKON DS, DOILOM M, PHOOKAMSAK R, TANG AMC, XU JC, MORTIMER PE, PROMPUTTHA I, MAHARACHCHIKUMBURA SSN, KHAN S, KARUNARATHNA SC. Fungal diversity notes 840-928: micro-fungi associated with *Pandanaceae*[J]. Fungal Diversity, 2018, 93(1): 1-160.
- [13] HYDE KD, JONES EBG, LIU JK, ARIYAWANSA H, BOEHM E, BOONMEE S, BRAUN U, CHOMNUNTI P, CROUS PW, DAI DQ, DIEDERICH P, DISSANAYAKE A, DOILOM M, DOVERI F,

- HONGSANAN S, JAYAWARDENA R, LAWREY J, LI YM, LIU YX, LÜCKING R, et al. Families of *Dothideomycetes*[J]. Fungal Diversity, 2013, 63: 1-313.
- [14] PHILLIPS ALL, ALVES A, ABDOLLAHZADEH J, SLIPPERS B, WINGFIELD MJ, GROENEWALD JZ, CROUS PW. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture[J]. Studies in Mycology, 2013, 76(1): 51-167.
- [15] PHILLIPS AJL, HYDE KD, ALVES A, LIU JK. Families in *Botryosphaeriales*: a phylogenetic, morphological and evolutionary perspective[J]. Fungal Diversity, 2019, 94(1): 1-22.
- [16] SLIPPERS B, BOISSIN E, PHILLIPS AJL, GROENEWALD JZ, LOMBARD L, WINGFIELD MJ, POSTMA A, BURGESS T, CROUS PW. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriales*: a systematic and evolutionary framework[J]. Studies in Mycology, 2013, 76(1): 31-49.
- [17] DISSANAYAKE AJ, CAMPORESI E, HYDE KD, PHILLIPS AJL, FU CY, YAN JY, LIU XH. *Dothiorella* species associated with woody hosts in Italy[J]. Mycosphere, 2016, 7(1): 51-63.
- [18] 陈娅娅. 贵州喀斯特地区微型真菌分类与系统发育研究[D]. 贵阳: 贵州大学博士学位论文, 2020.
- CHEN YY. Taxonomic and Phylogenetic studies of microfungi from Guizhou Karst areas[D]. Guiyang: Doctoral Dissertation of Guizhou University, 2020 (in Chinese).
- [19] 李力, 张渤, 范俐, 廖婷, 洪永聪. 侵染茶树的葡萄座腔菌分离鉴定及其拮抗菌筛选[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 2023, 35(1): 75-80.
- LI L, ZHANG B, FAN L, LIAO T, HONG YC. Isolation, identification and antagonistic bacterium screening of a fungal pathogen *Botryosphaeria dothidea* isolate infecting tea plant leaves[J]. Journal of Ningde Teachers College (Natural Science Edition), 2023, 35(1): 75-80 (in Chinese).
- [20] LI GQ, LIU FF, LI JQ, LIU QL, CHEN SF. *Botryosphaeriaceae* from *Eucalyptus* plantations and adjacent plants in China[J]. Persoonia, 2018, 40: 63-95.
- [21] 汪宇轩, 周涛, 周逸文, 李齐升, 王卉, 单宏英. 天津地区梨轮纹病原菌的分离与鉴定[J]. 天津农业科学, 2023, 29(9): 42-46, 52.
- WANG YX, ZHOU T, ZHOU YW, LI QS, WANG H, SHAN HY. Isolation and identification of a pathogen causing pear ring spot in Tianjin[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2023, 29(9): 42-46, 52 (in Chinese).
- [22] 王彦芬. 果树枝干葡萄座腔菌科病原真菌及其真菌病毒多样性研究[D]. 郑州: 河南农业大学博士学位论文, 2023.
- WANG YF. Study on the diversity of pathogenic fungi and mycoviruses in the *Botryosphaeriaceae* from fruit tree branches[D]. Zhengzhou: Doctoral Dissertation of Henan Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [23] 肖峰. 我国梨轮纹病原鉴定与 BkLiP1 基因功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2022.
- XIAO F. Gene function of BkLiP1 and identification of *Botryosphaeria* causing pear ring rot in China[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [24] 肖小娥. 中国柑橘枝干真菌性病害病原多样性[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2022.
- XIAO XE. Diversity of fungi causing *Citrus* branch diseases in China[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2022 (in Chinese).
- [25] 褚睿天, 豆志鹏, 贺伟, 张英. 引起蓝莓茎溃疡病的葡萄座腔菌属 *Botryosphaeria* 二新种(英文)[J]. 菌物学报, 2021, 40(3): 473-486.
- CHU RT, DOU ZP, HE W, ZHANG Y. Two novel species of *Botryosphaeria* causing stem canker of blueberries from China (in English)[J]. Mycosystema, 2021, 40(3): 473-486.
- [26] 周悦妍, 张玮, 李兴红, 贾静怡, 王晶, 张开春, 燕继晔. 引起甜樱桃叶斑病的葡萄座腔菌的鉴定[J]. 植物病理学报, 2021, 51(4): 636-640.
- ZHOU YY, ZHANG W, LI XH, JIA JY, WANG J, ZHANG KC, YAN JY. Identification of *Botryosphaeria dothidea* associated with cherry leaf spot disease[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(4): 636-640 (in Chinese).
- [27] WANG F, ZHAO L, LI GH, HUANG JB, HSIANG T. Identification and characterization of *Botryosphaeria* spp. causing gummosis of peach trees in Hubei Province, central China[J]. Plant Disease, 2011, 95(11): 1378-1384.
- [28] YAN JY, XIE Y, ZHANG W, WANG Y, LIU JK, HYDE KD, SEEM RC, ZHANG GZ, WANG ZY, YAO SW, BAI XJ, DISSANAYAKE AJ, PENG YL, LI XH. Species of *Botryosphaeriaceae* involved in grapevine dieback in China[J]. Fungal Diversity, 2013, 61(1): 221-236.
- [29] TANG W, DING Z, ZHOU ZQ, WANG YZ, GUO LY. Phylogenetic and pathogenic analyses show that the causal agent of apple ring rot in China is *Botryosphaeria dothidea*[J]. Plant Disease, 2012, 96(4): 486-496.

- [30] XU C, WANG CS, JU LL, ZHANG R, BIGGS AR, TANAKA E, LI BZ, SUN GY. Multiple locus genealogies and phenotypic characters reappraise the causal agents of apple ring rot in China[J]. Fungal Diversity, 2015, 71(1): 215-231.
- [31] ZHOU YP, DOU ZP, HE W, ZHANG XD, ZHANG Y. *Botryosphaeria sinensia* sp. nov., a new species from China[J]. Phytotaxa, 2016, 245(1): 43-50.
- [32] FAN XL, HYDE KD, LIU JK, LIANG YM, TIAN CM. Multigene phylogeny and morphology reveal *Phaeobotryon rhois* sp. nov. (Botryosphaerales, Ascomycota)[J]. Phytotaxa, 2015, 205(2): 90-98.
- [33] PAN M, ZHU HY, BEZERRA JDP, BONTJON G, TIAN CM, FAN XL. Botryosphaeralean fungi causing canker and dieback of tree hosts from Mount Yudu in China[J]. Mycological Progress, 2019, 18(11): 1341-1361.
- [34] ZHU HY, TIAN CM, FAN XL. Studies of Botryosphaeralean fungi associated with canker and dieback of tree hosts in Dongling Mountain of China[J]. Phytotaxa, 2018, 348(2): 63-76.
- [35] WIJAYAWARDENE NN, PHILLIPS AJL, TIBPROMMA S, DAI DQ, SELBMANN L, MONTEIRO JS, APTROOT A, FLAKUS A, RAJESHKUMAR KC, COLEINE C, PEREIRA DS, FAN X, ZHANG L, MAHARACHCHIKUMBURA SSN, SOUZA MF, KUKWA M, SUWANNARACH N, RODRIGUEZ-FLAKUS P, ASHTEKAR N, DAUNER L, et al. Looking for the undiscovered asexual taxa: case studies from lesser studied life modes and habitats[J]. Mycosphere, 2021, 12(1): 1290-1333.
- [36] SENANAYAKE IC, RATHNAYAKA AR, MARASINGHE DS, CALABON MS, GENTEKAKI E, LEE HB, HURDEAL VG, PEM D, DISSANAYAKE LS, WIJESINGHE SN, BUNDHUN D, NGUYEN TT, GOONASEKARA ID, ABEYWICKRAMA PD, BHUNJUN CS, JAYAWARDENA RS, WANASINGHE DN, JEEWON R, BHAT DJ, XIANG MM. Morphological approaches in studying fungi: collection, examination, isolation, sporulation and preservation[J]. Mycosphere, 2020, 11(1): 2678-2754.
- [37] WHITE TJ, BRUNS TD, LEE SB, TAYLOR JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[A]//INNI MA, GELFAND DH, SNINSKY JJ, WHITE TJ (eds.) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications[M]. San Diego, USA: Academic Press, 1990: 315-322.
- [38] VILGALYS R, HESTER M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(8): 4238-4246.
- [39] ALVES A, CROUS PW, CORREIA A, PHILLIPS AJL. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*[J]. Fungal Diversity, 2008, 28(2): 1-13.
- [40] HALL TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT[J]. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, 41(41): 95-98.
- [41] KATO H, STANDLEY DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(4): 772-780.
- [42] LARSSON A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets[J]. Bioinformatics, 2014, 30(22): 3276-3278.
- [43] SWOFFORD DL. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods), Version 4.0b10[M]. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2002.
- [44] STAMATAKIS A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models[J]. Bioinformatics, 2006, 22(21): 2688-2690.
- [45] STAMATAKIS A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies[J]. Bioinformatics, 2014, 30(9): 1312-1313.
- [46] RONQUIST F, HUELSENBECK JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models[J]. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572-1574.
- [47] DARANAGAMA DA, THAMBUGALA KM, CAMPINO B, ALVES A, BULGAKOV TS, PHILLIPS AJL, LIU XZ, HYDE KD. *Phaeobotryon negundinis* sp. nov. (Botryosphaerales) from Russia[J]. Mycosphere, 2016, 7(7): 933-941.