

## 研究报告

# 三种松树内生真菌的分离鉴定及其对红脂大小蠹伴生真菌的拮抗作用

闫鹏勇<sup>#1,2</sup>, 顾颖<sup>#1</sup>, 马安凯<sup>1</sup>, 王明<sup>1,3</sup>, 付宁宁<sup>1</sup>, 王立祥<sup>4</sup>, 任利利<sup>\*1</sup>,  
卢志恒<sup>5</sup>, 骆有庆<sup>1</sup>

1 北京林业大学林木有害生物防治北京市重点实验室, 北京 100083

2 晋源区人民政府晋源街道办事处综合便民服务中心, 山西 太原 030025

3 广东省科学院动物研究所 广东省动物保护与资源利用重点实验室 广东省野生动物保护与利用公共实验室,  
广东 广州 510260

4 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃 兰州 730070

5 内蒙古黑里河国家级自然保护区管理处, 内蒙古 赤峰 024200

闫鹏勇, 顾颖, 马安凯, 王明, 付宁宁, 王立祥, 任利利, 卢志恒, 骆有庆. 三种松树内生真菌的分离鉴定及其对红脂大小蠹伴生真菌的拮抗作用[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2405-2421.

YAN Pengyong, GU Ying, MA Ankai, WANG Ming, FU Ningning, WANG Lixiang, REN Lili, LU Zhiheng, LUO Youqing. Isolation and identification of endophytic fungi of three pine species and their antagonistic effect on the associated fungi of *Dendroctonus valens*[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2405-2421.

**摘要:**【背景】松树的内生真菌会影响红脂大小蠹及其伴生真菌的生长及扩散, 从而影响红脂大小蠹的入侵。【目的】掌握赤峰地区红脂大小蠹寄主树种内生真菌的物种多样性, 筛选对其伴生菌有拮抗作用的菌株, 为红脂大小蠹的生物防治提供资源。【方法】采用组织分离法、形态学鉴定和 internal transcribed spacer (ITS) 序列分析相结合的方法对红脂大小蠹寄主树种油松、樟子松和潜在寄主落叶松进行内生真菌多样性研究, 并用两点对峙法进行拮抗菌株筛选。【结果】松树内生真菌鉴定为 2 门 6 纲 10 目 18 科 19 属, 其中落叶松韧皮部分离到的内生真菌数量最多, 为 39 株, 隶属于 9 属 12 种, 真菌检出率为 43.33%; 油松次之, 为 30 株, 隶属于 7 属 8 种, 真菌检出率为 33.33%; 樟子松最少, 为 29 株, 隶属于 10 属 13 种, 真菌检出率为 32.22%。3 个树种的内生真菌相似性较低, 无共有的菌种, 青霉属(*Penicillium*)和篮状菌属(*Talaromyces*)是唯一二的共有菌属, 且青霉属在 3 个树种中均为优势菌属。平板对峙结果表明 90% 以上的树木内生真菌均能够与伴生真菌形成稳定的对峙, 抑制率在 50%–86% 之间, 且 *Phialocephala* sp. 和 *Pochonia bulbillosa* 对伴生菌的抑制率

资助项目: 国家自然科学基金(31870642)

<sup>#</sup>对本文贡献相同

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31870642).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: lily\_ren@bjfu.edu.cn

Received: 2022-08-30; Accepted: 2022-10-27; Published online: 2022-12-06

能高达 93.7%。【结论】松树韧皮部的内生真菌具有较高的生防潜力, *Phialocephala* sp. 和 *P. bulbilosa* 对红脂大小蠹伴生菌有较好的抑制效果, 可作为红脂大小蠹的生防资源。

关键词: 红脂大小蠹; 内生真菌; 伴生真菌; 多样性; 拮抗作用

## Isolation and identification of endophytic fungi of three pine species and their antagonistic effect on the associated fungi of *Dendroctonus valens*

YAN Pengyong<sup>#1,2</sup>, GU Ying<sup>#1</sup>, MA Ankai<sup>1</sup>, WANG Ming<sup>1,3</sup>, FU Ningning<sup>1</sup>, WANG Lixiang<sup>4</sup>, REN Lili<sup>\*1</sup>, LU Zhiheng<sup>5</sup>, LUO Youqing<sup>1</sup>

1 Beijing Key Laboratory for Forest Pest Control of Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

2 Comprehensive Civil Service Center of Jinyuan Street Office of Jinyuan District People's Government, Taiyuan 030025, Shanxi, China

3 Guangdong Key Laboratory of Animal Conservation and Resource Utilization, Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization, Institute of Zoology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510260, Guangdong, China

4 College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

5 Inner Mongolia Heili River National Nature Reserve Management Office, Chifeng 024200, Inner Mongolia, China

**Abstract:** [Background] Endophytic fungi of pine trees can affect the growth and spread of *Dendroctonus valens* and its associated fungi, thus further influencing the invasion of *D. valens*. [Objective] To investigate the diversity of endophytic fungi in the hosts of *D. valens* in Chifeng, Inner Mongolia in northern China, and to screen strains against its associated fungi for the control of this destructive forest pest. [Methods] The endophytic fungi in the hosts *Pinus tabulaeformis* and *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and potential host *Larix gmelinii* were explored by tissue isolation, morphological identification, and ITS sequence analysis, and the antagonistic strains were screened with the plate confrontation method. [Results] The endophytic fungi in 19 genera, 18 families, 10 orders, 6 classes, and 2 phyla were identified from the three pine species. *L. gmelinai* topped the three species in the number of isolated strains (39 strains of 12 species in 9 genera), with fungal detection rate of 43.33%, followed by *P. tabulaeformis* (30 strains of 8 species in 7 genera), with fungal detection rate of 33.33%, and coming in the third was *P. sylvestris* var. *mongolica* (29 strains of 13 species in 10 genera), with fungal detection rate of 32.22%. The three pine species had no common strains but had the common genera of *Penicillium* and *Talaromyces*. *Penicillium* dominated the fungi in all three pine species. The results of plate confrontation indicated that more than 90% of the endophytic fungi showed stable confrontation against the associated fungi, and the inhibition rate ranged from 50% to 86%. Particularly, the associated fungi-inhibiting rate of *Phialocephala* sp. and *Pochonia bulbilosa* stood at 93.7%. [Conclusion] The endophytic fungi in the bark of pine trees have high potential for biocontrol, and *Phialocephala* sp. and *P. bulbilosa* have satisfactory

inhibitory effect on the concomitant fungi of *D. valens* and can be used for controlling *D. valens*.

**Keywords:** *Dendroctonus valens*; endophytic fungi; associated fungi; diversity; antagonism

红脂大小蠹(*Dendroctonus valens*)隶属于鞘翅目(Coleoptera)象甲科(Curculionidae)小蠹亚科(Scolytinae)<sup>[1]</sup>,在原产地北美洲属于次期性害虫,能够危害 40 余种针叶树种<sup>[2]</sup>,以松属(*Pinus*)植物为主,但主要侵害长势衰弱或已被病虫害侵染过的树木,并不造成主要危害<sup>[3]</sup>。该虫自 20 世纪 80 年代传入我国<sup>[4]</sup>后迅速暴发成灾,现已在我国山西、陕西、河北、河南、北京、辽宁、内蒙古、甘肃、青海等地均有分布<sup>[5-7]</sup>,导致我国 1 000 余万株健康油松的死亡<sup>[8]</sup>,对我国社会经济造成了巨大的损失<sup>[7,9-11]</sup>。

在原产地属于次期性害虫的红脂大小蠹传入我国后转为初期性害虫,这一转变与其生物学特性发生明显变化有关<sup>[12]</sup>。而对红脂大小蠹入侵机制的研究发现,伴生真菌长梗细帚霉(*Leptographium procerum*)在我国形成了更具竞争力和致病力的独特单倍型,并在红脂大小蠹入侵定殖的过程中发挥了至关重要的作用:(1)诱导寄主树木产生红脂大小蠹聚集信息素,吸引大量红脂大小蠹共同攻克寄主;(2)作为树木的病原真菌,使寄主树木韧皮部坏死,削弱寄主树木的抗性;(3)对寄主树木产生的化学防御物质单萜  $\alpha$ -蒎烯有一定耐受和降解能力,帮助红脂大小蠹更好地完成生活史;(4)诱导寄主油松产生抑制其他伴生真菌生长的化合物,使它们可以稳定伴生<sup>[13]</sup>。

红脂大小蠹伴生真菌在其入侵、定殖、危害过程中均扮演着不可或缺的角色,但其随着虫体侵入寄主树木的韧皮部后,势必会与树木韧皮部原有的内生真菌相互作用,竞争营养物质与栖息环境。树木内生真菌是指生活史的某一阶段或者全部阶段生活在树木组织内部但不

会引起寄主树木明显病变的真菌<sup>[14]</sup>。几乎所有植物内部都存在内生真菌,部分树木内生真菌可通过对病原菌的抑菌作用或对害虫的趋避作用来增强寄主植物的抗性。例如,樟子松内生真菌 *Phialocephala bamuru* 对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)具有较好的抑制作用<sup>[15]</sup>;香脂冷杉的内生真菌叶点霉属(*Phyllosticta*)对云杉卷叶蛾具有毒性,能增加幼虫的死亡率,从而减轻害虫对寄主树木的危害<sup>[16]</sup>。由此可见,红脂大小蠹寄主树木内生真菌或可通过影响其伴生真菌的生长及扩散,从而间接影响红脂大小蠹的入侵。

前人对红脂大小蠹伴生真菌的研究较多,但对与其密切联系的寄主树种内生真菌研究较少。因此,本文将以寄主树种内生真菌与红脂大小蠹伴生真菌的互作关系为切入点,以明确红脂大小蠹不同寄主树种韧皮部内生真菌多样性和筛选其伴生真菌的拮抗真菌为目标,探究松树内生真菌对红脂大小蠹寄主选择的影响,以期在今后红脂大小蠹的生物防治提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

样本采集地位于我国内蒙古自治区赤峰市境内的黑里河国家级自然保护区与旺业甸国家森林公园,黑里河国家级自然保护区主要由天然油松林和落叶松林组成;而旺业甸国家森林公园的主要造林树种由油松、落叶松和樟子松组成。两地相距 30 多公里,均属温带半干旱大陆性季风气候,自然条件十分相似。红脂大小蠹在黑里河国家级自然保护区只危害油松;在旺业甸国家森林公园大量危害樟子松,少部分

危害油松；落叶松在两地均基本不受危害。

## 1.2 主要试剂和仪器

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基、硫酸链霉素、5%次氯酸钠溶液、75%乙醇，北京拜尔迪生物技术有限公司；CTAB 植物基因组 DNA 快速提取试剂盒，北京艾德莱生物科技有限公司；引物 ITS1 和 ITS4、金牌 Mix (green)，北京擎科生物科技有限公司。

超净工作台，苏州净化设备有限公司；智能人工气候箱，宁波科晟实验仪器有限公司；第三代高速组织研磨器套装，天根生化科技(北京)有限公司；电泳仪，Bio-Rad 公司；凝胶成像系统，Aplegen 公司；正置光学显微镜，ZEISS 公司。

## 1.3 样本的采集及处理

2019 年 6 月在内蒙古自治区赤峰市黑里河镇红脂大小蠹的危害区内，随机选取不同海拔高度相距较远的健康油松、樟子松、落叶松各 9 株，在每株树木的树干基部(1.5 m 以下)采集 1 块 8 cm×8 cm 的韧皮部组织，装在与无菌密封袋中，存入冰盒带回北京林业大学重点实验室。

使用灭菌的真菌打孔器从每份韧皮组织上取 13 块直径为 7 mm 的圆形韧皮组织进行表面消毒，每份韧皮组织需取出其中 3 块用于消毒效果的检验(组织印迹法)<sup>[17]</sup>。表面消毒方法：于 5%的次氯酸钠溶液中浸泡 30 s，无菌蒸馏水冲洗 3 次。

## 1.4 树木内生真菌的分离纯化与种类鉴定

采用组织分离法进行真菌分离，每个寄主树种设置 10 个重复，将表面消毒后的圆形韧皮组织接种于添加了硫酸链霉素(0.05 g/L)的 PDA 培养基<sup>[18-19]</sup>，在 25 °C 黑暗条件下培养。每天观察真菌的生长情况，挑取尖端的菌丝进行分离，直至长出单一纯菌落。

真菌鉴定采取形态鉴定与分子鉴定相结合

的方法，形态鉴定参考《中国真菌志》<sup>[20]</sup>和《真菌鉴定手册》<sup>[21]</sup>；分子鉴定采用 CTAB 法提取内生真菌的 DNA，采用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行扩增<sup>[22]</sup>。PCR 反应体系(25 μL)：DNA 模板(150 ng/μL) 1 μL，1.1×金牌 Mix 22 μL，ITS1 和 ITS4 (10 μmol/L)各 1 μL。PCR 反应条件：98 °C 2 min；98 °C 10 s，50 °C 15 s，72 °C 15 s，30 个循环；72 °C 5 min<sup>[23]</sup>。PCR 扩增产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测，后将条带明亮且无杂带的样品送至北京擎科生物公司测序。将待测真菌的分子序列拼接后在 NCBI 官网(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行 BLAST 比对，依据相似度大于 99%可初步鉴定为同一个种、大于 95%小于 99%可以鉴定为同一个属的原则确定菌株的种属<sup>[24-28]</sup>。

## 1.5 供试的红脂大小蠹伴生真菌种类

以长梗细帚霉(*L. procerum*)、小长喙壳(*Ophiostoma minus*)、齿小蠹蛇口壳(*O. ips*)和多孢多穴腔菌(*Sydowia polyspora*)为对峙实验的菌株材料，4 种伴生菌均分离于红脂大小蠹的体表及其在不同寄主树木上的蛀道，采样的时间地点与前文所述相同，菌种保藏于北京林业大学林木有害生物防治北京市重点实验室，菌种信息详见表 1。

## 1.6 平板对峙试验

先用十字交叉法测量不同真菌的生长速率，再用两点对峙培养法测定寄主树木内生真菌对红脂大小蠹伴生真菌的拮抗能力。生长速率测定方法：先将供试菌株全部活化，然后用直径 4 mm 的打孔器打取菌饼至直径 90 mm 的 PDA 培养基中心，在 25 °C 黑暗条件下培养，十字交叉测量菌落直径(取均值)，每隔 24 h 标记菌丝生长的最前沿，当菌丝到达培养皿边缘

表 1 供试的红脂大小蠹伴生真菌信息

Table 1 The detailed information of associated fungi of *Dendroctonus valens* for testing

物种 Species	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	代表菌株 Strain	寄主树种 Host	GenBank 登录号 GenBank accession No.
<i>L. procerum</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	Ophiostomatales	Ophiostomataceae	YZ10-2-1	<i>P. tabuliformis</i> ; <i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	MN900621
<i>O. ips</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	Ophiostomatales	Ophiostomataceae	YZ5-8-1	<i>P. tabuliformis</i> ; <i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	MN907679
<i>O. minus</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	Ophiostomatales	Ophiostomataceae	YZ3-6-1	<i>P. tabuliformis</i> ; <i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	MN889473
<i>S. polyspora</i>	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	Dothioraceae	YZ16-8-3	<i>P. tabuliformis</i>	MN900630

时停止测量, 对于生长缓慢的真菌至少测量 2 周, 每种真菌重复 3 次。平板对峙培养方法: 在培养基中心接种 4 mm 红脂大小蠹伴生真菌, 在距平板边缘 20 mm 处接 2 块树木内生真菌(以接种 4 mm 无菌的 PDA 琼脂块为对照组), 并保证 3 个菌块在同一条直线。接种时间参照生长速率而定。在恒温培养箱中 25 °C 黑暗条件下培养, 每天观察菌落的生长情况, 并记录菌丝前缘到达的位置, 直至红脂大小蠹伴生真菌不再继续生长为止。试验设置 3 个重复。

## 1.7 数据处理

使用真菌检出率(isolation rate, *IR*)表示寄主树种检出某一种或多种内生真菌的菌株数目占全部分离样本数目的百分比; 使用真菌相对丰度(relative abundance, *RA*)表示分离到一种或一类真菌的菌株数目占全部菌株数目的百分比, 并将相对丰度高于 1/*S* 的菌种(属)定义为优势菌种(属); 使用丰富度指数(richness, *R*)反映不同寄主树种内生真菌的丰富程度; 使用 Shannon-Wiener 多样性指数(*H'*)反映不同寄主树种内生真菌的物种多样性程度; 使用均匀度指数(*J*)比较同一树种的不同个体样本间的差异; 使用 Jaccard 相似性指数(*C<sub>j</sub>*)比较不同树种

间内生真菌种类组成的相似程度。使用真菌生长速率(growth rate, *GR*)表示不同菌株每天的生长距离; 使用抑制率(*p*)表示某种树木内生真菌对红脂大小蠹伴生真菌的抑制效果。

$$IR(\%) = N_s / M \times 100$$

$$RA(\%) = N_s / N \times 100$$

$$R = (S - 1) / \ln N$$

$$H' = -\sum (P_i \times \ln P_i)$$

$$J = H' / (\ln(S))$$

$$C_j = (c) / (a + b - c)$$

$$GR = L / D$$

$$P(\%) = [(C - d) - (T - d)] / (C - d) \times 100$$

式中: *N<sub>s</sub>* 为某一种或多种内生真菌的菌株数目; *M* 为总分离样本的数目; *N* 为同一样本中分离所有菌株数目; *S* 为真菌总的物种(属)数目; *P<sub>i</sub>* = *N<sub>i</sub>* / *N*, *N<sub>i</sub>* 为第 *i* 个物种的数目(*i* = 1, 2, 3, ..., *n*), *a*、*b* 为两个样本中各自的真菌的种数或属数; *c* 为两个样本中共有的真菌种数或属数; *C* 为对照组中红脂大小蠹伴生真菌的菌落半径; *T* 为实验组中红脂大小蠹伴生真菌的菌落半径; *d* 为菌饼的半径; *L* 为菌丝生长的总长度(mm); *D* 为菌丝生长时间(d)。

使用 R 语言中的 *vegan* 软件包计算丰富度指数、多样性指数及均匀度指数, 使用 Excel 计算相似性指数, 使用单因素方差分析统计真

菌生长速率差异及树木内生真菌对红脂大小蠹伴生真菌的抑制率差异,采用邦弗伦尼法进行多重比较,使用 SPSS 26.0 处理结果,使用 GraphPad Prism8 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 红脂大小蠹寄主与潜在寄主树种韧皮部内生真菌的分离鉴定

从当地油松、樟子松及落叶松健康木的韧

皮部分离得到内生真菌共计 98 株,经形态学和分子生物学鉴定,最终有 79 株明确鉴定到 21 个不同的种,19 株真菌只鉴定到 8 个不同的属(表 2)。其中,落叶松韧皮部分离到的内生真菌数量最多,为 39 株 12 种,真菌检出率为 43.33%,优势内生真菌( $P_i > 1/S = 1/12$ )是 *Penicillium pancosmium*、光孢青霉(*P. glabrum*)和类阿达青霉(*P. adametzioides*);油松次之,为 30 株 8 种,真菌检出率为 33.33%,优势内生真菌( $P_i > 1/S = 1/8$ )

表 2 红脂大小蠹寄主树种韧皮部内生真菌的种类组成

Table 2 The composition of endophytic fungi in phloem of *Dendroctonus valens*' host tree species

种类 Species	门 Phylum	纲 Class	菌株数量 Number of strains			代表菌株 Strain	GenBank 登录号 GenBank accession No.
			油松 <i>Pinus tabuliformis</i>	樟子松 <i>Pinus sylvestris var. mongholica</i>	落叶松 <i>Larix gmelinii</i>		
<i>Alternaria</i> sp.	Ascomycota	Dothideomycetes	—	—	2	ZZS1-8-1	MN907644
<i>Chalara</i> sp.	Ascomycota	Leotiomycetes	—	2	—	ZZS2-4-1	MN901843
<i>Clonostachys rosea</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	1	—	—	YS3-5-1	MN889471
<i>Crumenulopsis</i> sp.	Ascomycota	Leotiomycetes	—	1	—	ZZS1-10-1	MN944605
<i>Cytospora leucostoma</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	—	1	—	ZZS5-4-1	MN907640
<i>Lecanicillium attenuatum</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	—	—	3	LYS2-10-3	MN908945
<i>Lecanicillium fusisporum</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	2	—	—	YS9-4-1	MN889410
<i>Microsphaeropsis olivacea</i>	Ascomycota	Dothideomycetes	—	—	3	LYS3-2-1	MN944412
<i>Pachnocybe</i> sp.	Basidiomycota	Pucciniomycetes	—	—	3	LYS3-9-2	MN945985
<i>Paraphaeoisaria alabamensis</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	4	—	—	YS8-5-1	MN904499
<i>Penicillium adametzioides</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	—	5	ZZS5-8-1	MN900649
<i>Penicillium cairnsense</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	2	—	ZZS9-2-1	MN955601
<i>Penicillium glabrum</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	9	—	6	YS4-4-1	MN889443
<i>Penicillium mallochii</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	2	—	ZZS8-2-3	MN944416
<i>Penicillium oregonense</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	4	—	ZZS7-7-2	MN901160
<i>Penicillium pancosmium</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	2	—	6	YS1-5-1	MN889424
<i>Penicillium restrictum</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	6	—	ZZS5-6-1	MN900648
<i>Peniophora</i> sp.	Basidiomycota	Agaricomycetes	—	—	3	LYS2-8-3	MN944414
<i>Pezicula sporulosa</i>	Ascomycota	Leotiomycetes	2	—	—	YS7-10-1	MN889445
<i>Phaeoconiella</i> sp.	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	1	—	ZZS4-4-1	MN907633
<i>Phialocephala</i> sp.	Ascomycota	Leotiomycetes	4	2	—	YS2-8-1	MN894145
<i>Pochonia bulbillosa</i>	Ascomycota	Sordariomycetes	—	—	1	LYS2-7-1	MN871512
<i>Pragmopora</i> cf. <i>bacillifera</i>	Ascomycota	Leotiomycetes	—	—	3	ZZS6-8-1	MN900646
<i>Pragmopora</i> cf. <i>piceae</i>	Ascomycota	Leotiomycetes	—	2	3	ZZS9-9-2	MN907643
<i>Proliferodiscus earoleucus</i>	Ascomycota	Leotiomycetes	—	3	—	ZZS3-6-1	MN901941
<i>Pucciniomycetes</i> sp.	Basidiomycota	Pucciniomycetes	—	1	—	ZZS2-2-1	MN904500
<i>Talaromyces cecidicola</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	6	—	—	YS6-6-1	MN889416
<i>Talaromyces purpurogenus</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	—	1	LYS7-1-2	MN901500
<i>Talaromyces rugulosus</i>	Ascomycota	Eurotiomycetes	—	2	—	ZZS2-3-3	MN901235

—: 分离到的菌株数量为 0

—: The number of strains isolated is 0.

是光孢青霉(*P. glabrum*)和 *Talaromyces cecidicola*; 而樟子松韧皮部分离到的内生真菌数量最少, 但种类最多, 为 29 株 13 种, 真菌检出率为 32.22%, 优势内生真菌( $P_i > 1/S = 1/13$ )是局限青霉(*P. restrictum*)、*P. oregonense* 和 *Proliferodiscus earoleucus*。差异显著性分析结果显示落叶松的内生真菌检出率显著高于油松与樟子松, 而检出种数为樟子松与落叶松显著高于油松。

在种水平上, 油松与樟子松内生真菌仅有 1 个共有菌种, 为一种瓶头霉属真菌(*Phialocephala* sp.); 樟子松与落叶松也仅有 1 个共有的菌种, 为 *Pragmopora* cf. *piceae*; 落叶松与油松则有 2 个共有的菌种, 为光孢青霉(*P. glabrum*)和 *P. pancosmium*; 而油松、樟子松和落叶松韧皮部特有的内生真菌菌种则分别为 5、11 和 9 种(图 1)。

## 2.2 红脂大小蠹寄主与潜在寄主树种韧皮部内生真菌的群落组成分析

鉴定结果显示 98 株内生真菌隶属于 2 门 6 纲 10 目 18 科 19 属, 其中 2 门为子囊菌门

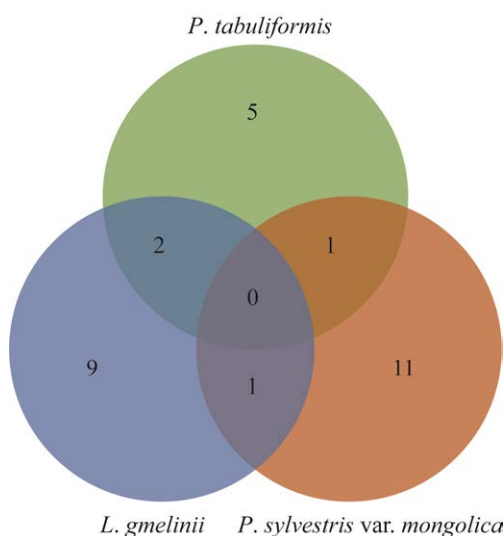


图 1 红脂大小蠹寄主树种韧皮部内生真菌在种水平分布的韦恩图

Figure 1 The Venn diagram of endophytic fungi in three host trees of *Dendroctonus valens* at species level.

(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota); 6 纲为散囊菌纲(*Eurotiomycetes*)、粪壳菌纲(*Sordariomycetes*)、锤舌菌纲(*Leotiomycetes*)、座囊菌纲(*Dothideomycetes*)、柄锈菌纲(*Pucciniomycetes*)和伞菌纲(*Agaricomycetes*); 10 目为散囊菌目(*Eurotiales*)、间座壳目(*Diaporthales*)、柔膜菌目(*Helotiales*)、肉座菌目(*Hypocreales*)、霜杯耳目(*Pachnocybales*)、星裂盘菌目(*Phacidiales*)、格孢腔菌目(*Pleosporales*)、红菇目(*Russulales*)、隔担菌目(*Septobasidiales*)和 *Phaeomoniellales*。

如图 2 所示, 在目水平上, 油松韧皮部(4 目)的内生真菌相对丰度由高到低为散囊菌目(56.67%)>柔膜菌目(20.00%)>*Phaeomoniellales* (13.33%)>间座壳目(10.00%); 樟子松韧皮部的内生真菌(6 目)相对丰度由高到低为散囊菌目(55.17%)>柔膜菌目(27.59%)>星裂盘菌目(6.90%)>隔担菌目(3.45%)=间座壳目(3.45%)=*Phaeomoniellales* (3.45%); 落叶松韧皮部的内生真菌(6 目)相对丰度由高到低为散囊菌目(46.15%)>星裂盘菌目(15.38%)>格孢腔菌目(12.82%)>肉座菌目(10.26%)>霜杯耳目(7.69%)=红菇目(7.69%)。

在属水平上, 油松韧皮部的内生真菌隶属于 7 个属, 优势菌属( $P_i > 1/S = 1/7$ )是青霉属(36.67%)和篮状菌属(20.00%); 樟子松韧皮部的内生真菌隶属于 10 个属, 优势菌属( $P_i > 1/S = 1/10$ )是青霉属(48.28%)和 *Proliferodiscus* (10.34%); 落叶松韧皮部的内生真菌隶属于 9 个属, 优势菌属( $P_i > 1/S = 1/9$ )是青霉属(43.59%)和 *Pragmopora* (15.38%) (图 3)。

在属水平上, 3 个树种有 2 个共有的菌属, 为青霉属和篮状菌属; 油松与樟子松韧皮部有 1 个共有的菌属, 为瓶头霉属; 樟子松与落叶松韧皮部有 1 个共有的菌属, 为 *Pragmopora*;



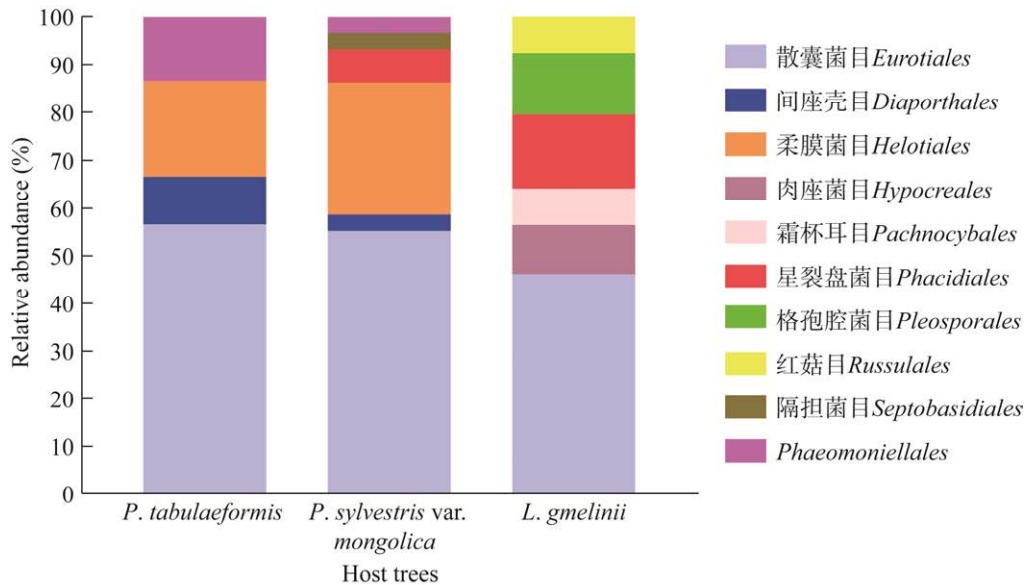


图2 红脂大小蠹寄主树种韧皮部内生真菌在目水平的分布

Figure 2 Distribution of endophytic fungi in three host trees of *Dendroctonus valens* at order level.

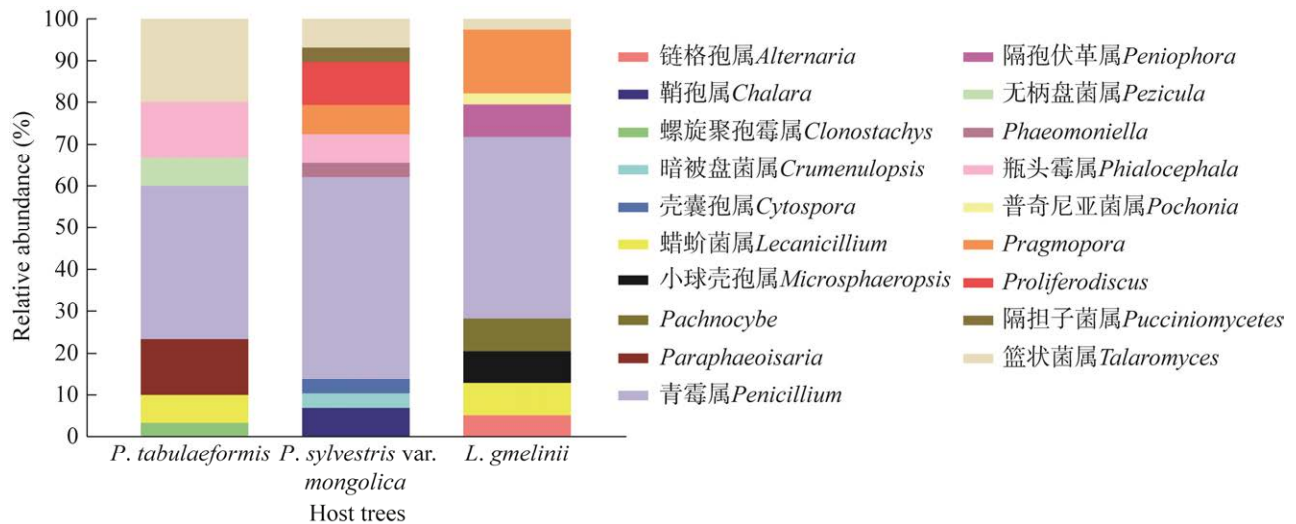


图3 红脂大小蠹寄主树种韧皮部内生真菌在属水平的分布

Figure 3 Distribution of endophytic fungi in three host trees of *Dendroctonus valens* at genus level.

落叶松与油松韧皮部有 1 个共有的菌属，为蜡蚧菌属；而油松、樟子松和落叶松韧皮部各自独有的菌属分别有 3、6 和 5 个(图 4)。总而言之，青霉属菌株最多，为 42 株，分属于 7 个种，占内生真菌分离总数的 42.86%，是红脂大小蠹

寄主树种韧皮部内生真菌群落中的优势类群。

### 2.3 红脂大小蠹不同寄主树种内生真菌的多样性与相似性比较

如表 3 所示，红脂大小蠹 3 种寄主树种的多样性指数与均匀度均为樟子松最高，落叶松



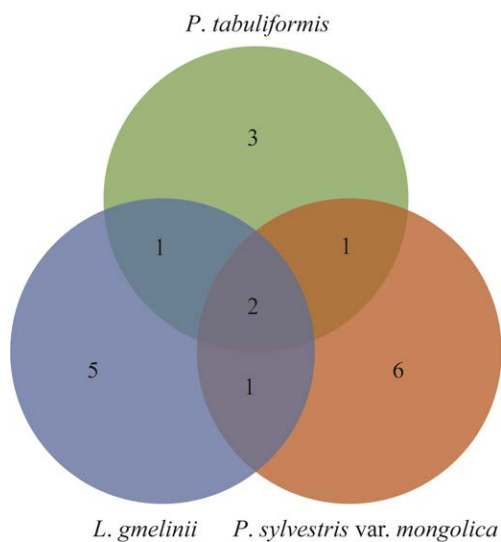


图 4 红脂大小蠹寄主树种韧皮部内生真菌在属水平分布的韦恩图  
Figure 4 The Venn diagram of endophytic fungi in three host trees of *Dendroctonus valens* at genus level.

次之，油松最低；而丰富度指数则为落叶松最高，樟子松次之，油松最低。表明在 3 种寄主里，韧皮部内生真菌的种类和菌种分配的均匀度均为樟子松最高而油松最低；而在物种数量上则是落叶松最高而油松最低。

如表 4 所示，油松与落叶松的内生真菌相似性最高，油松与樟子松的相似性次之，樟子松与落叶松的相似性最低，但总体而言，这 3 个树种韧皮部的内生真菌相似性普遍较低，表明红脂大小蠹不同寄主树种内生真菌的种类差异较大。

**2.4 红脂大小蠹不同寄主树木内生真菌与其伴生真菌的生长速率比较**

本实验共测定了 29 种寄主树种韧皮部内生真菌及 4 种红脂大小蠹伴生真菌的生长速率，由图 5 可知，在 25 °C 黑暗条件下，33 种真菌在 PDA 培养基上的生长速率存在显著差异 ( $F=1\ 234.07$ ,  $P<0.01$ )，且生长速率最大的是小长喙

表 3 红脂大小蠹不同寄主树种韧皮部内生真菌的多样性  
Table 3 Diversity indices of endophytic fungi from the phloem of *Dendroctonus valens*' different host trees

寄主 Host	多样性指数 Shannon-Wiener index ( $H'$ )	均匀度指数 Evenness index ( $J$ )	丰富度指数 Richness index ( $R$ )
油松	1.875 4	0.853 5	2.058 1
<i>P. tabulaeformis</i>			
樟子松	2.405 0	0.951 1	3.002 5
<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>			
落叶松	2.363 3	0.937 6	3.563 7
<i>L. gmelinii</i>			

表 4 红脂大小蠹不同寄主树种韧皮部内生真菌的相似性  
Table 4 Similarity coefficients of endophytic fungi from the phloem of *Dendroctonus valens*' different host trees

寄主 Host	油松 <i>P. tabulaeformis</i>	樟子松 <i>P. sylvestris</i>	落叶松 <i>L. gmelinii</i>
		var. <i>mongolica</i>	
油松	1.000 0	0.050 0	0.111 1
<i>P. tabulaeformis</i>			
樟子松	0.050 0	1.000 0	0.041 7
<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>			
落叶松	0.111 1	0.041 7	1.000 0
<i>L. gmelinii</i>			

壳(*O. minus*) [(8.875±0.414) mm/d]，生长速率最小的为 *Pucciniomyces* sp. [(0.336±0.001) mm/d]。寄主树木内生真菌与小蠹伴生真菌的生长速率比较结果显示，除链格孢属未鉴定种(*Alternaria* sp.)相较于长梗细帚霉(*L. procerum*)差异不显著外( $P>0.01$ )，均表现为寄主树木内生真菌显著低于其伴生真菌。

**2.5 红脂大小蠹不同寄主树木内生真菌对其伴生真菌的拮抗作用**

本研究采用平板对峙法进行拮抗作用评价，由于绝大部分树木内生真菌生长速率显著低于

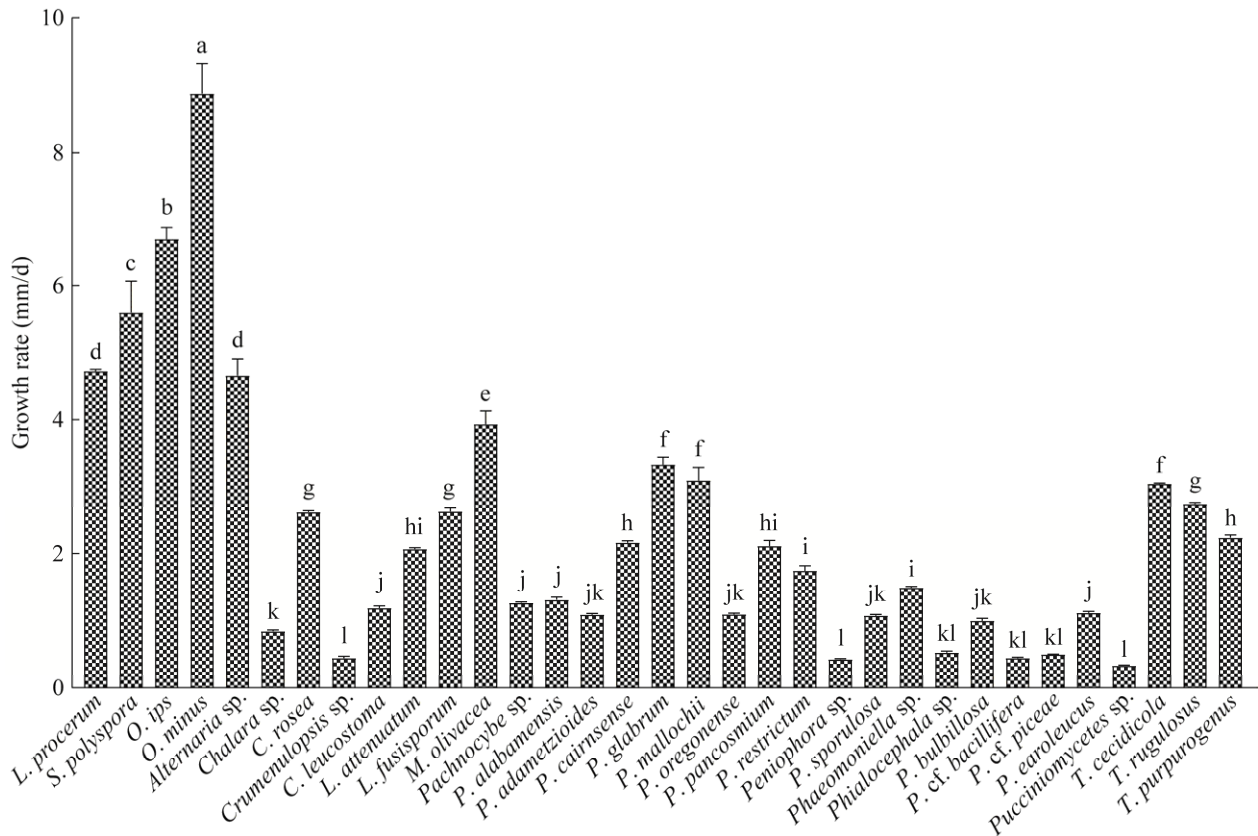


图 5 33 种真菌在 25 °C 黑暗条件、PDA 培养基上的生长速率 不同小写字母表示不同真菌生长速率的统计学差异( $P < 0.01$ )

Figure 5 Growth rates of 33 species of fungi on PDA medium under dark conditions at 25 °C. Different lowercase letters indicate statistical differences in the growth rates of different fungi ( $P < 0.01$ ).

红脂大小蠹伴生真菌,而野外却是内生真菌优先占据大部分生态位,所以本研究在实验时先接入树木内生菌,再根据其与伴生真菌的生长速率差异,在之后的 0、3、6、9 d 后再接入伴生真菌(表 5)。

内生真菌对伴生菌的抑制率如图 6–8 所示,在 25 °C 黑暗条件下,油松及樟子松韧皮部分分离到的瓶头霉属真菌(*Phialocephala* sp.)及落叶松韧皮部分分离到的轮枝孢(*P. bulbilosa*)对 4 种红脂大小蠹伴生真菌的抑制效果显著高于绝大多数树木内生真菌,抑制率均在 85% 以上,而且可在 PDA 培养基上观察到红脂大小蠹伴生真

菌生长停滞现象(图 9)。但除了 *Pachnocybe* sp. vs. *L. procerum*、*Alternaria* sp. vs. *O. minus*、*P. pancosmium* vs. *O. minus* 时伴生真菌可覆盖住内生真菌的菌丝继续生长外,其余的树木内生真菌均能够在 PDA 培养基上与伴生真菌形成稳定的对峙。

### 3 讨论与结论

本研究从红脂大小蠹的寄主油松、樟子松和潜在寄主落叶松的韧皮部分离得到 98 株内生真菌菌株,通过形态鉴定和 ITS 序列分析鉴定为 19 个属,其中 79 株内生真菌鉴定到 21 个

表 5 伴生真菌接种时间表

Table 5 Schedule of associated fungi inoculation

真菌种类	寄主树种	生长速率	接种间隔时间
Species of fungi	Host trees	Speed of growth (mm/d)	Interval of inoculation (d)
<i>Alternaria</i> sp.	<i>L. gmelinii</i>	4.658±0.22d	0
<i>Chalara</i> sp.	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	0.847±0.02k	9
<i>C. rosea</i>	<i>P. tabulaeformis</i>	2.617±0.05g	3
<i>Crumenulopsis</i> sp.	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	0.448±0.02l	9
<i>C. leucostoma</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	1.189±0.03j	6
<i>L. attenuatum</i>	<i>L. gmelinii</i>	2.071±0.03hi	3
<i>L. fusisporum</i>	<i>P. tabulaeformis</i>	2.625±0.02g	3
<i>M. olivacea</i>	<i>L. gmelini</i>	3.933±0.05e	0
<i>Pachnocybe</i> sp.	<i>L. gmelini</i>	1.264±0.18j	6
<i>P. alabamensis</i>	<i>P. tabulaeformis</i>	1.313±0.01j	6
<i>P. admetzioides</i>	<i>L. gmelini</i>	1.092±0.01jk	6
<i>P. cairnsense</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	2.163±0.03 h	3
<i>P. glabrum</i>	<i>P. tabulaeformis</i> ; <i>L. gmelini</i>	3.333±0.10f	0
<i>P. mallochii</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	3.096±0.18f	0
<i>P. oregonense</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	1.093±0.02jk	6
<i>P. pancosmium</i>	<i>P. tabulaeformis</i> ; <i>L. gmelini</i>	2.117±0.07hi	3
<i>P. restrictum</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	1.750±0.06i	6
<i>Peniophora</i> sp.	<i>L. gmelini</i>	0.433±0.02l	9
<i>P. sporulosa</i>	<i>P. tabulaeformis</i>	1.076±0.02jk	6
<i>Phaeomoniella</i> sp.	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	1.497±0.02i	6
<i>Phialocephala</i> sp.	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	0.529±0.02kl	9
<i>P. bulbilosa</i>	<i>L. gmelini</i>	1.130±0.03jk	6
<i>P. cf. bacillifera</i>	<i>L. gmelini</i>	0.448±0.01kl	9
<i>P. cf. piceae</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i> ; <i>L. gmelini</i>	0.502±0.01kl	9
<i>P. earoleucus</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	1.117±0.02j	6
<i>Pucciniomycetes</i> sp.	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	0.336±0.01l	9
<i>T. cecidicola</i>	<i>P. tabulaeformis</i>	3.044±0.01f	0
<i>T. rugulosus</i>	<i>L. gmelini</i>	2.742±0.02g	3
<i>T. purpurogenus</i>	<i>P. sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	2.238±0.04h	3

不同的小写字母表示不同真菌生长速率的统计学差异( $P<0.01$ )

Different lowercase letters indicate statistical differences in the growth rates of different fungi ( $P<0.01$ ).

不同的种, 19 株内生真菌未鉴定到种, 隶属于 8 个不同的属, 表明内生真菌的多样性较为丰富。在属水平上, 青霉属(*Penicillium*)占有内生真菌数量的 42.86%, 且在不同寄主树种中的相对丰度均最高, 是构成红脂大小蠹寄主树种韧皮部内生真菌群落的优势类群, 青霉属在针叶树内生真菌群落里的优势地位与前人的研究

结果<sup>[29-30]</sup>一致。然而从真菌的检出率来看, 落叶松表现为最高(43.33%), 油松次之(33.33%), 樟子松最低(32.22%), 且不同寄主韧皮部的内生真菌相似性较低, 3 个树种甚至不存在共有的菌种, 说明内生真菌具有较高的寄主专一性, 这可能与不同针叶树材质硬度和挥发物质不同有关<sup>[31]</sup>。野外调查结果显示, 当林分中仅有油

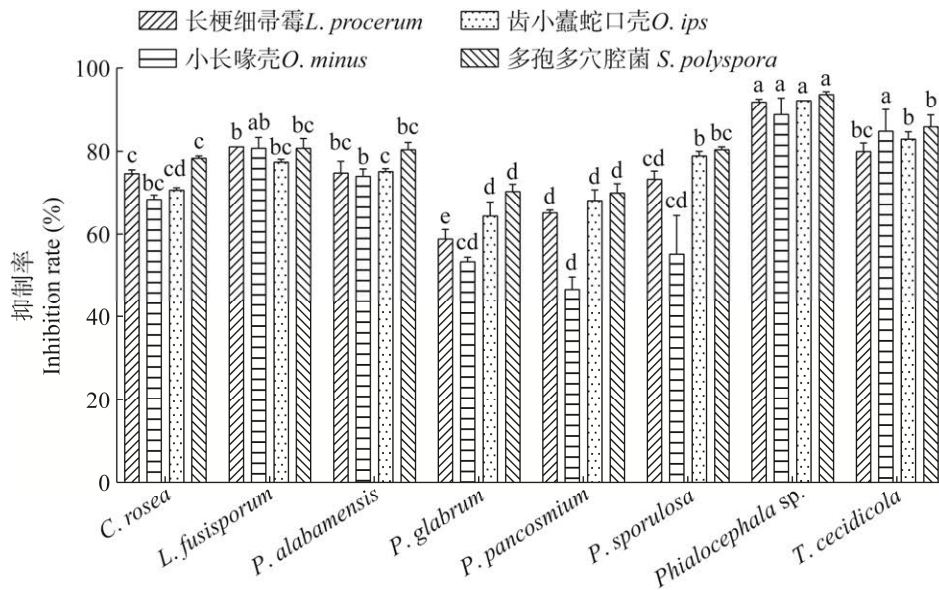


图 6 油松韧皮部的内生真菌对红脂大小蠹伴生真菌的抑制率 不同小写字母表示抑制率差异显著 ( $P < 0.01$ )

Figure 6 Inhibition rates for endophytic fungi in the phloem of *Pinus tabulaeformis* against associated fungi of *Dendroctonus valens*. Different lowercase letters mean inhibitory rates are statistically significant at  $P < 0.01$ .

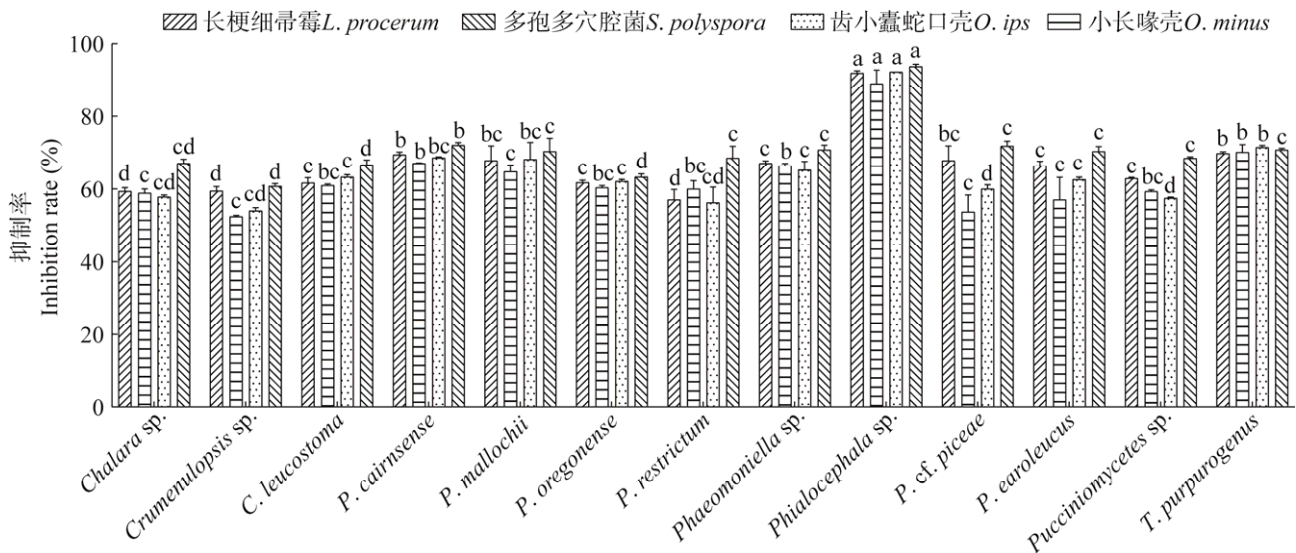


图 7 樟子松韧皮部的内生真菌对红脂大小蠹伴生真菌的抑制作用 不同小写字母表示抑制率差异显著 ( $P < 0.01$ )

Figure 7 Inhibition rates for endophytic fungi in the phloem of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* against associated fungi of *Dendroctonus valens*. Different lowercase letters mean inhibitory rates are statistically significant at  $P < 0.01$ .



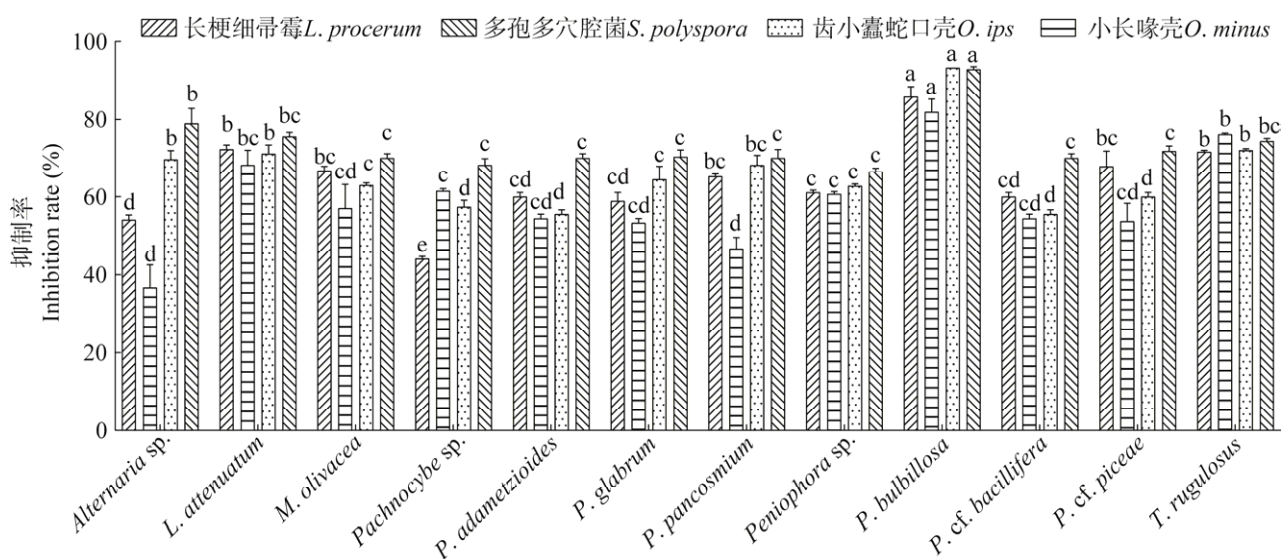


图 8 落叶松韧皮部的内生真菌对红脂大小蠹伴生真菌的抑制作用 不同小写字母表示抑制率差异显著 ( $P < 0.01$ )

Figure 8 Inhibition rates for endophytic fungi in the phloem of *Larix gmelinii* against associated fungi of *Dendroctonus valens*. Different lowercase letters mean inhibitory rates are statistically significant at  $P < 0.01$ .

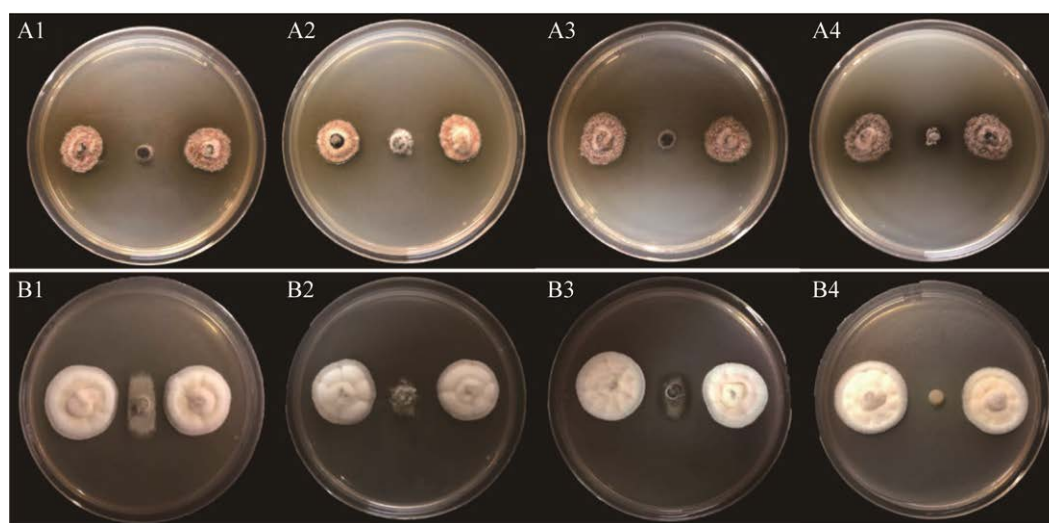


图 9 树木内生真菌与红脂大小蠹伴生真菌的拮抗效果图 A1: 瓶头霉属真菌与长梗细帚霉对峙; A2: 瓶头霉属真菌与小长喙壳对峙; A3: 瓶头霉属真菌与齿小蠹蛇口壳对峙; A4: 瓶头霉属真菌与多孢多穴腔菌对峙. B1: 轮枝孢与长梗细帚霉对峙; B2: 轮枝孢与小长喙壳对峙; B3: 轮枝孢与齿小蠹蛇口壳对峙; B4: 轮枝孢与多孢多穴腔菌对峙

Figure 9 Antagonistic effect of endophytic fungi of host tree species and associated fungi of *Dendroctonus valens*. A1: *Phialocephala* sp. vs. *Larix procerum*; A2: *Phialocephala* sp. vs. *Ophiostoma minus*; A3: *Phialocephala* sp. vs. *Ophiostoma ips*; A4: *Phialocephala* sp. vs. *Sydowia polyspora*. B1: *Pochonia bulbilosa* vs. *Leptographium procerum*; B2: *Pochonia bulbilosa* vs. *Ophiostoma minus*; B3: *Pochonia bulbilosa* vs. *Ophiostoma ips*; B4: *Pochonia bulbilosa* vs. *Sydowia polyspora*.

松和落叶松时(黑里河样地),红脂大小蠹仅危害油松;当林分中有油松、落叶松和樟子松时(旺业甸样地),红脂大小蠹主要危害樟子松,其次危害油松,落叶松仍旧不受危害<sup>[32]</sup>。这表明在黑里河和旺业甸受害林区内,红脂大小蠹的危害偏好是樟子松>油松>落叶松,而真菌检出率为樟子松>油松>落叶松,因此推测树木内生真菌会对红脂大小蠹的入侵造成影响,而且红脂大小蠹偏好危害所含树木内生菌检出率相对更少的寄主。

为进一步探究树木内生真菌如何对红脂大小蠹入侵产生影响,查阅了本研究中所分离内生真菌已报道的功能,结果发现其中一部分内生真菌属于昆虫病原真菌,例如蜡蚧菌属(*Lecanicillium*)的真菌可产生几丁质酶,对昆虫有致死作用<sup>[33]</sup>;一部分内生真菌是昆虫的营养来源,例如隔担子菌属真菌(*Pucciniomyces* sp.)是瘿蚊科昆虫的食物来源之一<sup>[34]</sup>;还有一部分内生真菌可增加植物吸收无机盐离子的能力,例如瓶头霉属真菌(*Phialocephala* sp.)可促进植物对磷元素的吸收<sup>[35-36]</sup>;大部分的树木内生真菌还具有潜在的生防价值,能够对植物病原真菌起到抑制作用,例如粉红螺旋聚孢霉(*C. rosea*)对灰霉病、根腐病、小麦枯萎病等多种病原菌都有抑制作用<sup>[37-39]</sup>,局限青霉(*P. restrictum*)可通过产生淀粉水解酶、脂肪酶等对部分真菌起拮抗作用<sup>[40-41]</sup>,*P. mallochii* 可通过产生抗氧化活性物质对部分细菌和病原真菌进行抑制<sup>[42-43]</sup>。由此可见,红脂大小蠹寄主树木内生真菌的生态功能具有多样性,且在病原菌拮抗方面较为突出。

在野外,红脂大小蠹危害寄主树木后,只有蛀道周围的韧皮部会变色坏死,其伴生真菌并不会随韧皮部蔓延至整株树木,推测正是由于存在有显著抑制作用的树木内生真菌,才使得伴生真菌局限在原真菌生态位被取食破坏的

蛀道周围,而不向整株树木扩散。为了明确寄主树木内生真菌与伴生真菌的关系,本研究测定了所有分离所得的内生真菌和4种伴生真菌的生长速率,并在PDA培养基上进行两点对峙培养,结果显示伴生真菌的生长速率显著高于绝大部分的树木内生真菌,这表明红脂大小蠹伴生真菌在寄主内竞争资源和生态位的能力是强于寄主内生真菌的,我们推测这可能是伴生真菌能在短时间内占据蛀道周围生态位且为红脂大小蠹的定殖提供帮助的原因之一。然而对峙实验的结果表明,90%以上的树木内生真菌都能够与红脂大小蠹伴生真菌形成稳定的对峙(抑制率50%–86%),且*Phialocephala* sp.和*P. bulbillosa*对伴生菌的抑制率高达93.7%,具有很好的拮抗作用。研究结果表明树木内生真菌具有很大的生防菌株开发潜力,但这些内生真菌的抑菌机制目前尚不清楚,有待进一步研究来为生物防治提供新的手段和思路。

## REFERENCES

- [1] 殷惠芬. 强大小蠹的简要形态学特征和生物学特征[J]. 动物分类学报, 2000, 25(1): 120, 43.  
YIN HF. The synopsis on morphological and biological characters of *Dendroctonus valens* LeConte[J]. Zoological Systematics, 2000, 25(1): 120, 43 (in Chinese).
- [2] 闫鹏勇. 红脂大小蠹伴生真菌和寄主树种内生菌的种类及相互关系研究[D]. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2020.  
YAN PY. Study on the species and relationship of associated fungi and endophytes of host tree species of *Dendroctonus valens*[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing Forestry University, 2020 (in Chinese).
- [3] RAPPAPORT NG, OWEN DR, STEIN JD. Interruption of semiochemical-mediated attraction of *Dendroctonus valens* (Coleoptera:Scolytidae) and selected nontarget insects by verbenone[J]. Environmental Entomology, 2001, 30(5).
- [4] 李计顺, 常国彬, 宋玉双, 王艺伟, 常宝山. 实施工程治理控制红脂大小蠹虫灾: 对红脂大小蠹暴发成

- 因及治理对策的探讨[J]. 中国森林病虫, 2001, 20(4): 41-44.
- LI JS, CHANG GB, SONG YS, WANG YW, CHANG BS. Carrying out project management and controlling plague of red turpentine beetle[J]. Forest Pest and Disease, 2001, 20(4): 41-44 (in Chinese).
- [5] 杨爽. 红脂大小蠹新传入地区监测和防控技术[J]. 河北林业科技, 2017(2): 53-54.
- YANG S. Prevention and control technology of red turpentine beetle (*Dendroctonus valens* LeConte) in new afferent zone[J]. The Journal of Hebei Forestry Science and Technology, 2017(2): 53-54 (in Chinese).
- [6] 王涛, 宗世祥, 刘彪, 王广晋. 北京地区红脂大小蠹发生与扩散规律研究[J]. 现代农业科技, 2012(16): 124-126.
- WANG T, ZONG SX, LIU B, WANG GJ. Study on the occurrence and diffusion of *Dendroctonus valens* in Beijing[J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2012(16): 124-126 (in Chinese).
- [7] 张海风. 红脂大小蠹发生规律与可持续控制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2011.
- ZHANG HF. Study on the occurrence regularity and sustainable control of *Dendroctonus valens*[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2011 (in Chinese).
- [8] 吕全, 张苏芳, 林若竹, 王慧敏. 中国主要林业入侵生物的发生现状及其研究趋势[J]. 植物保护, 2022, 48(4): 21-38.
- LÜ Q, ZHANG SF, LIN RZ, WANG HM. Occurrence status of main forestry invasive species in China and their research trends[J]. Plant Protection, 2022, 48(4): 21-38 (in Chinese).
- [9] SUN JH, LU M, GILLETTE NE, WINGFIELD MJ. Red turpentine beetle: innocuous native becomes invasive tree killer in China[J]. Annual Review of Entomology, 2013, 58: 293-311.
- [10] 董亚新, 裴佳禾, 邵钰莹, 宗世祥, 侯泽海. 红脂大小蠹幼虫和成虫耐寒能力及耐寒物质的研究[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(4): 978-985.
- DONG YX, PEI JH, SHAO YY, ZONG SX, HOU ZH. Cold tolerance and cold tolerant substances of larva and adult of *Dendroctonus valens* LeConte[J]. Journal of Environmental Entomology, 2021, 43(4): 978-985 (in Chinese).
- [11] YAN ZL, SUN JH, DON O, ZHANG ZN. The red turpentine beetle, *Dendroctonus valens* LeConte (*Scolytidae*): an exotic invasive pest of pine in China[J]. Biodiversity and Conservation, 2005, 14(7): 1735-1760.
- [12] 吕全, 张星耀, 杨忠岐, MARAITE H, 尹德善, 任晓宏. 红脂大小蠹伴生菌研究进展[J]. 林业科学, 2008, 44(2): 134-142.
- LÜ Q, ZHANG XY, YANG ZQ, MARAITE H, YIN DS, REN XH. Progress in study on the fungi associated with *Dendroctonus valens*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2008, 44(2): 134-142 (in Chinese).
- [13] LU M, WINGFIELD MJ, GILLETTE NE, MORI SR, SUN JH. Complex interactions among host pines and fungi vectored by an invasive bark beetle[J]. The New Phytologist, 2010, 187(3): 859-866.
- [14] WILSON D. Fungal endophytes which invade insect galls: insect pathogens, benign saprophytes, or fungal inquilines?[J]. Oecologia, 1995, 103(2): 255-260.
- [15] 赫俊阳, 宋小双, 宋瑞清, 邓勋. 樟子松根部深色有隔内生真菌的生防菌筛选[J]. 中南林业科技大学学报, 2022, 42(7): 55-66.
- HE JY, SONG XS, SONG RQ, DENG X. Screening of biocontrol fungi for dark-colored endophytic fungi in the roots of *Pinus sylvestris* var. *mongolica*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2022, 42(7): 55-66 (in Chinese).
- [16] CALHOUN LA, FINDLAY JA, MILLER JD, WHITNEY NJ. Metabolites toxic to spruce budworm from balsam fir needle endophytes[J]. Mycological Research, 1992, 96(4).
- [17] STURZ AV, CHRISTIE BR, MATHESON BG, NOWAK J. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth[J]. Biology and Fertility of Soils, 1997, 25(1).
- [18] 张功友, 王一涵, 郭敏, 张婷婷, 王兵, 刘红美. 重楼中一株产纤维素酶内生真菌的分离及鉴定[J]. 生物技术通报, 2022, 38(2): 95-104.
- ZHANG GY, WANG YH, GUO M, ZHANG TT, WANG B, LIU HM. Isolation and identification of a cellulase-producing endophytic fungus in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(2): 95-104 (in Chinese).
- [19] 刘博, 蒲乐莹, 陶科, 金洪, 侯太平. 紫花苜蓿根腐病生防菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 南方农业学报, 2022, 53(8): 2142-2152.
- LIU B, PU LY, TAO K, JIN H, HOU TP. Screening and identification of biocontrol bacteria against alfalfa root rot and optimization of fermentation conditions[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(8): 2142-2152 (in Chinese).



- [20] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.  
WEI JC. Fungal Identification Handbook[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979 (in Chinese).
- [21] 张中义, 张陶. 中国真菌志[M]. 北京: 科学出版社, 2014.  
ZHANG ZY, ZHANG T. Chinese Flora[M]. Beijing: Science Press, 2014 (in Chinese).
- [22] 张红芳, 黄艳, 李思齐, 欧阳建萍, 何刚, 陈晔. 卷柏内生真菌多样性研究[J]. 菌物学报, 2019, 38(11): 1886-1893.  
ZHANG HF, HUANG Y, LI SQ, OUYANG JP, HE G, CHEN Y. Diversity of endophytic fungi isolated from *Selaginella tamariscina*[J]. Mycosystema, 2019, 38(11): 1886-1893 (in Chinese).
- [23] 王立祥. 寄主树种内生真菌对入侵种松树蜂的影响[D]. 北京: 北京林业大学博士学位论文, 2019.  
WANG LX. Effects of endophytic fungi from host tree species on invasive pine wasps[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Beijing Forestry University, 2019 (in Chinese).
- [24] 邱荣勇. 龙葵、商陆耐铅内生菌促进马尾松对铅富集的研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2019.  
QIU RY. Study on lead-tolerant endophytes from *Solanum nigrum* and *Phytolacca americana* promoting lead enrichment of *Pinus massoniana*[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2019 (in Chinese).
- [25] 孙晓璐, 张新红, 王明跃, 张源. 皖北地区白酒大曲中酵母菌的筛选与鉴定[J]. 食品工业科技, 2015, 36(24): 194-197.  
SUN XL, ZHANG XH, WANG MY, ZHANG Y. Selection and identification of yeast strains in Daqu liquor in the north of Anhui Province[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(24): 194-197 (in Chinese).
- [26] 曲佳乐. 木糖醇高产菌株的选育及发酵工艺的研究[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2011.  
QU JL. Breeding of high-yield xylitol strain and study on fermentation technology[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [27] 刘金. 贮藏期油茶籽污染霉菌及其对油茶籽仁品质的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学硕士学位论文, 2019.  
LIU J. Contaminated mold of *Camellia oleifera* seeds during storage and its effect on the quality of *Camellia oleifera* seeds[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [28] 马跃腾. 秦巴蛹虫草诱变选育及白化菌株生物学特性的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2014.  
MA YT. Study on mutation breeding of *Cordyceps militaris* and biological characteristics of albino strain[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2014 (in Chinese).
- [29] 乌日罕. 呼和浩特市 5 种针叶树内生真菌的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2015.  
WU RH. Study on five endophytic fungi of conifers in Hohhot[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [30] 梁艳. 内蒙古中西部针叶树内生真菌的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2010.  
LIANG Y. Study on endophytic fungi of conifers in central and western Inner Mongolia[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [31] 王立祥, 刘晓博, 任利利, 石娟, 骆有庆. 松树蜂入侵的混交林中针叶树种内生真菌多样性[J]. 林业科学, 2017, 53(9): 81-89.  
WANG LX, LIU XB, REN LL, SHI J, LUO YQ. Variety of endophytic fungi associated with conifers in mixed conifer forests invaded by *Sirex noctilio*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2017, 53(9): 81-89 (in Chinese).
- [32] 刘敏, 刘宇杰, 付宁宁, 徐强, 刘玉山, 任利利, 骆有庆. 7 种松树挥发物分析及其主要萜烯类物质对红脂大小蠹行为选择的影响[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(1): 48-59.  
LIU M, LIU YJ, FU NN, XU Q, LIU YS, REN LL, LUO YQ. Analysis of volatiles from seven conifer species and effects of main terpenoids on the behavior responses of *Dendroctonus valens*[J]. Journal of Environmental Entomology, 2021, 43(1): 48-59 (in Chinese).
- [33] 赵洋, 陈德鑫, 黄化刚, 武侠. 渐狭蜡蚧菌 *Lecanicillium attenuatum* 产几丁质酶的活性及对南方根结线虫卵孵化的抑制作用[J]. 植物保护学报, 2014, 41(5): 547-554.  
ZHAO Y, CHEN DX, HUANG HG, WU X. Inhibition of chitinase-producing fungus *Lecanicillium attenuatum* on egg-hatching of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J]. Journal of Plant Protection, 2014, 41(5): 547-554 (in Chinese).
- [34] JIAO KL, WANG F, WANG H, WANG J. New *Mycodiplosis* gall midge (*Diptera:Cecidomyiidae*)

- feeding on fungal rusts (*Fungi:Pucciniomycetes*) that are pathogenic on cultured plants[J]. *Zootaxa*, 2019, 4661(1): 161-170.
- [35] LI DH, CAI SX, ZHU TJ, WANG FP, XIAO X, GU QQ. New cytotoxic metabolites from a deep-sea-derived fungus, *Phialocephala* sp., strain FL30r[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2011, 8(5): 895-901.
- [36] JUMPPONEN A, MATTSON KG, TRAPPE JM. Mycorrhizal functioning of *Phialocephala fortinii* with *Pinus contorta* on glacier forefront soil: interactions with soil nitrogen and organic matter[J]. *Mycorrhiza*, 1998, 7(5): 261-265.
- [37] HUE AG, VOLDENG HD, SAVARD ME, FEDAK G, TIAN X, HSIANG T. Biological control of fusarium head blight of wheat with *Clonostachys rosea* strain ACM941[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2009, 31(2): 169-179.
- [38] COTA LV, MAFFIA LA, MIZUBUTI ESG, MACEDO PEF, ANTUNES F. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions[J]. *Biological Control*, 2008, 46(3): 515-522.
- [39] XUE AG. Biological control of pathogens causing root rot complex in field pea using *Clonostachys rosea* strain ACM941[J]. *Phytopathology*, 2003, 93(3): 329-335.
- [40] GOMBERT AK, PINTO AL, CASTILHO LR, FREIRE DMG. Lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state fermentation using babassu oil cake as substrate[J]. *Process Biochemistry*, 1999, 35(1): 85-90.
- [41] JACKSON M, KARWOWSKI JP, HUMPHREY PE, KOHL WL, BARLOW GJ, TANAKA SK. Calbistrins, novel antifungal agents produced by *Penicillium restrictum*. I. Production, taxonomy of the producing organism and biological activity[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1993, 46(1): 34-38.
- [42] SANTOS POD, FERRAZ CG, RIBEIRO PR, MIRANDA FM, SILVA FD, SOUZA JTD, ROQUE MRDA, SOARES ACF. Antioxidant and antibacterial activities of the chlorine pigment sclerotiorin from *Penicillium mallochii* and its chemotaxonomic significance[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2019, 86: 103915.
- [43] ZHANG SX, FANG H, YIN CP, WEI CL, HU JW, ZHANG YL. Antimicrobial metabolites produced by *Penicillium mallochii* CCH01 isolated from the gut of *Ectropis oblique*, cultivated in the presence of a histone deacetylase inhibitor[J]. *Frontiers in microbiology*, 2019, 10: 2186.