

DOI:10.12403/j.1001-1498.20230201

落叶松八齿小蠹伴生长喙壳真菌致病性研究

刘亚¹, 周勤政², 王慧敏¹, 王正³, 吕全^{1*}

(1. 国家林业和草原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自然保护研究所, 北京 100091; 2. 中国农业大学植物保护学院, 北京 100193; 3. 山东农业大学植物保护学院, 山东 泰安 271018)

摘要: [目的] 通过分析落叶松八齿小蠹伴生长喙壳真菌对寄主的致病能力, 探究其对落叶松的危害程度与潜在风险。[方法] 利用人工接种的方法, 将从落叶松八齿小蠹虫体及坑道中分离到的 12 种长喙壳真菌接种到长白落叶松上, 60 d 后观察和测量病斑大小。并对 2 种 *Endoconidiophora* 真菌 (*E. fujiensis* 和 *E. laricicola*) 诱导寄主抗性的能力进行测定。[结果] 结果表明, 5 种长喙壳真菌 *E. laricicola*、*E. fujiensis*、*Ophiostoma hongxingense*、*O. peniculi* 和 *O. xinganense* 接种长白落叶松产生的病斑面积大于对照处理, 其余 7 种 *Ophiostoma* 真菌产生的病斑面积与对照无显著差异。*E. laricicola* 产生的平均病斑面积最大, 为 3.51 cm², 且诱导寄主萜类物质含量呈现先升高后降低的趋势, 表现出对长白落叶松的较强致病力。而 *E. fujiensis* 产生的平均病斑面积为 1.70 cm², 诱导寄主萜类物质含量呈现下降趋势, 表现出较弱致病力。[结论] *E. laricicola* 对长白落叶松具有强致病性, *E. fujiensis*、*O. hongxingense*、*O. peniculi* 和 *O. xinganense* 对长白落叶松具有弱致病性, 而另外 7 种 *Ophiostoma* 真菌对落叶松无明显致病性。

关键词: 落叶松八齿小蠹; *Endoconidiophora*; *Ophiostoma*; 单萜

中图分类号: S763.38; S763.15

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2024)02-0096-08

落叶松八齿小蠹 (*Ips subelongatus* Motschulsky) 为鞘翅目、小蠹亚科、齿小蠹属昆虫, 在东亚广泛分布, 是中国北方 3 种落叶松 (兴安落叶松、华北落叶松和长白落叶松) 的次期性严重为害的蛀干害虫^[1], 在种群暴发期可为害健康树木。作为影响本土针叶树并对非本土针叶树有威胁的主要害虫, 该害虫于 2003 年被中国列入“全国林业危险性有害生物名单”(国家林业局, 2003 年), 于 2005 年被欧洲地中海植物保护组织列入 A2 预警名单 (EPPO, 2005)。此外, 小蠹虫携带的多种病原微生物, 特别是长喙壳真菌, 在小蠹虫为害过程中会加重对树木的危害^[2]。

长喙壳真菌是一类包拮担子目 (*Ophiostomatales*) 真菌及相似类群真菌的总称, 其中一些种类是引起

林木病害的重要病原菌, 如引起榆树荷兰病的 *Ophiostoma ulmi* 和 *Ophiostoma novo-ulmi*、引起月桂枯萎病的 *Raffaelea lauricola* 及引起针叶树黑根病的 *Leptographium wageneri*^[2-4]。已有研究证实, 齿小蠹伴生真菌群落中的先锋种 *Endoconidiophora* spp., 如 *Endoconidiophora fujiensis*, 对日本地区的落叶松毒力较强, 可引发寄主坏死, 或诱导寄主落叶松产生强烈的抗性反应^[5]。*Endoconidiophora polonica* 高密度接种在挪威云杉上, 能导致其死亡^[6]。

小蠹虫和长喙壳真菌在长期的协同进化过程中形成了复杂的伴生关系, 二者之间的联系在小蠹虫定殖寄主过程中起着重要作用^[7-8]。研究表明, 长喙壳真菌可以合成小蠹虫生长发育所必需的甾醇^[9]、解毒寄主树木的防御物质^[10-12]、释放化学信

收稿日期: 2023-05-12 修回日期: 2023-06-07

基金项目: 国家自然科学基金 (32230071)

作者简介: 刘亚, 在读博士。主要研究方向: 森林病理学。Email: 13436862712@163.com

* 通讯作者: 吕全, 博士, 研究员。主要研究方向: 森林病理学。Email: luquan@caf.ac.cn

息素吸引或排斥同种小蠹虫^[13-14]等。然而,一些寄主萜类化合物对小蠹虫及其伴生真菌具有毒性,如针叶树在受到小蠹虫攻击时会增加单萜类化合物的合成,以抵抗小蠹虫的入侵,当萜类物质浓度高于小蠹虫的生理耐受阈值时,抑制小蠹虫的攻击^[15];离体试验也表明,在培养基中添加 α -pinene 和 limonene 等单萜类物质,可抑制长喙壳真菌的生长^[14, 16]。

研究明确小蠹虫传播的真菌是否会引植物病害以及植物是否会对小蠹虫及其伴生真菌产生抗性,是关于小蠹虫传播病菌的2个关键科学问题。本研究将2010—2018年采集分离的12种落叶松八齿小蠹伴生长喙壳真菌代表性菌株接种到5年生落叶松苗上^[17],观察不同真菌或菌株之间的致病力是否存在差异,并分析寄主防御相关代谢物质的变

化,以探究落叶松八齿小蠹及其伴生长喙壳真菌复合物对落叶松的潜在风险。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 本试验选用的12种长喙壳真菌为由2010—2018年采集的落叶松八齿小蠹虫体和坑道中分离纯化得到的菌株^[17],分别为 *E. fujiensis*、*E. laricicola*、*Ophiostoma hongxingense*、*Ophiostoma peniculi*、*Ophiostoma pseudobicolor*、*Ophiostoma subelongati*、*Ophiostoma genhense*、*Ophiostoma lotiforme*、*Ophiostoma rufum*、*Ophiostoma minus*、*Ophiostoma multisynnematum* 和 *Ophiostoma xinganense*, 每种真菌各选用2个菌株用于致病力试验(表1)。

表1 供试菌株信息

Table 1 The information of tested strains

种名 Species	菌株号 Strain No.	寄主 Host	采集地 Location
<i>Endoconidiophora fujiensis</i>	MJG55	日本落叶松 <i>Larix kaempferi</i>	辽宁抚顺 Fushun, Liaoning
	MJG29	日本落叶松 <i>L. kaempferi</i>	辽宁抚顺 Fushun, Liaoning
<i>E. laricicola</i>	TRL63	西伯利亚落叶松 <i>L. sibirica</i>	新疆阿勒泰 Altay, Xinjiang
	KBLK9	西伯利亚落叶松 <i>L. sibirica</i>	新疆阿勒泰 Altay, Xinjiang
<i>Ophiostoma hongxingense</i>	HXS70	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang
	HXS72	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang
<i>O. peniculi</i>	CFCC52688	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	GH77	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
<i>O. pseudobicolor</i>	CFCC52683	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	CFCC52684	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古赤峰 Chifeng, Inner Mongolia
<i>O. subelongati</i>	CFCC52693	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang
	ZHS37	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang
<i>O. genhense</i>	CFCC52675	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	CFCC52676	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
<i>O. lotiforme</i>	CFCC52691	樟子松 <i>Pinus sylvestris</i> var. <i>mongholica</i>	内蒙古海拉尔 Hailar, Inner Mongolia
	CFCC52692	樟子松 <i>P. sylvestris</i> var. <i>mongholica</i>	内蒙古海拉尔 Hailar, Inner Mongolia
<i>O. rufum</i>	CFCC52681	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	CFCC52682	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
<i>O. minus</i>	CFCC52697	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	CFCC52698	樟子松 <i>P. sylvestris</i> var. <i>mongholica</i>	内蒙古海拉尔 Hailar, Inner Mongolia
<i>O. multisynnematum</i>	CFCC52677	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	CFCC52678	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
<i>O. xinganense</i>	CFCC52679	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia
	CFCC52680	兴安落叶松 <i>L. gmelinii</i>	内蒙古呼伦贝尔 Hulunbuir, Inner Mongolia

1.1.2 寄主植物 选择移栽于中国林科院内的5年生白落叶松 (*Larix olgensis* A. Henry) 作为试验材料。这些落叶松高 2.0~3.0 m, 平均 2.49 m, 地径 2.05~4.77 cm, 平均 3.05 cm。

1.2 试验方法

1.2.1 接种 菌株在 2% MEA 培养基上 25 ℃ 黑暗条件下培养 7 d, 用经灭菌的直径 6 mm 软木塞打孔器在新培养菌落边缘打取菌苔。于 2019 年 7 月 9 日随机选择 60 棵落叶松, 在离地 30 cm 处的树干上, 用经灭菌的直径 6 mm 的软木塞打孔器打孔至木质部, 用无菌牙签将菌苔接入接种孔, 然后盖上树皮, 用封口膜缠绕, 并用胶带固定。以 2% MEA 培养基作为接种对照。每棵树上设 1 个接种点, 每个处理各设 5 次重复。

1.2.2 接种发病调查 接种 60 d 后, 撕开接种点的胶带和封口膜, 用壁纸刀刮去接种点周围病斑区域的外树皮, 测量病斑的长和宽, 并记录相关数据。

1.2.3 病原菌的再次分离 测量病斑大小后, 每个处理随机选择 3 个重复, 在接种植株病健交界处取约 1 cm² 样品放至 15 mL 无菌离心管并带回实验室, 于 -4 ℃ 冰箱保存。次日, 样品表面经 2% 次氯酸钠消毒 1 min, 然后用无菌水冲洗 3 次, 经无菌滤纸吸去表面水分后取约 1 mm² 组织碎片放置在 2% MEA 培养基上进行培养, 根据菌落形态学和核酸 β-微管蛋白 (BT) 基因片段序列比较鉴定是否为原始接种的长喙壳菌株。

1.2.4 单萜类物质测定 对 MJG55 (*E. fujisensis*) 和 TRL63 (*E. laricicola*) 菌株和对照接种 1、7、14、30 和 60 d 后的 5 棵落叶松进行单萜类物质测定, 以评估寄主防御反应强弱。用聚乙烯薄膜 (48 cm × 60 cm, 雷诺公司, 美国) 包裹接种点周围树干, 用特氟龙管将含有 100 mg Porapak-Q 吸附剂 (默克公司, 德国) 的玻璃管连接在小型真空泵上形成闭环动态顶空采样系统, 以 500 mL·min⁻¹ 的流速持续 1 h 收集寄主挥发性物质。将含有挥发物的玻璃管两端用锡纸包裹并缠绕封口膜, 放入装有干冰的保温箱并带回实验室。用 2 mL 色谱级正己烷洗脱寄主挥发物, 用温和的氮气将样品浓缩至 50 μL, 置于 -20 ℃ 冰箱保存直至气相色谱检测。气相色谱分析方法同 Liu 等人描述^[18]。将样品放置在配有火焰离子检测器和自动进

样器的气相色谱仪 (GC-FID, 安捷伦, 美国) 上, 使用口径 0.25 mm × 0.2 μm, 30 m 长的 HP-5 色谱柱进行分析, 每次进样 1 μL。

1.3 数据处理

根据 Rajtar 等^[19] 的方法, 计算接种点病斑面积 (长 × 宽)。单萜类化合物释放速率根据处理组和健康组的差值 (Δ) 进行分析。使用 IBM SPSS Statistics19 针对不同菌株产生的病斑、MJG55 和 TRL63 菌株处理的落叶松在同一时间产生的单萜类化合物释放速率、MJG55 或 TRL63 菌株处理在不同时间产生的单萜类化合物释放速率, 进行单因素方差分析 (LSD test, α=0.05)。

2 结果与分析

2.1 接种不同菌株后落叶松发病情况

接种两个月后的落叶松没有表现出明显的病害症状和枯萎现象。剥开外层树皮, 不同长喙壳菌株接种落叶松后产生的褐色至黑色坏死病斑如图 1, 病斑面积大小见图 2。比较发现, *E. laricicola* 的 2 个菌株 (TRL63 和 KBLK9) 产生的病斑最大, 面积分别为 3.51 ± 0.18 cm² 和 2.89 ± 0.19 cm²。单因素方差分析结果显示 *E. laricicola* 产生的病斑显著大于其他处理 (图 2)。*E. fujisensis* 的 2 个菌株 (MJG55 和 MJG29)、*O. hongxingense* 的 2 个菌株 (HXS70 和 HXS72)、*O. peniculi* 的



注: 图为部分长喙壳真菌接种落叶松产生的病斑。a: *E. laricicola* 的 TRL63 菌株; b: *E. fujisensis* 的 MJG55 菌株; c: *O. multisynnematum* 的 CFCC52678 菌株; d: 对照 MEA

Notes: The figure shows the lesions of larch after inoculation with some ophiostomatoid fungi. a: TRL63 of *E. laricicola*; b: MJG55 of *E. fujisensis*; c: CFCC52678 of *O. multisynnematum*; d: MEA of control

图 1 落叶松接种长喙壳真菌后产生的病斑

Fig. 1 The lesions produced on larch after inoculation with ophiostomatoid fungi

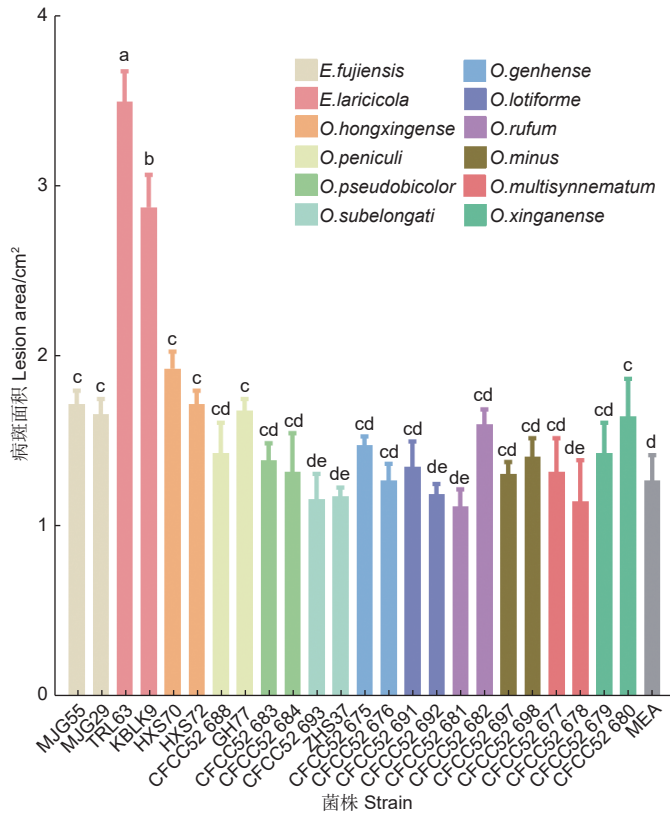


图2 落叶松接种长喙壳真菌后产生的病斑大小

Fig. 2 Size of lesions produced on larch inoculated with ophiostomatoid fungi

GH77 菌株和 *O. xinganense* 的 CFCC52680 菌株产生的病斑显著大于对照处理 ($1.28 \pm 0.15 \text{ cm}^2$)。其余菌株接种产生的病斑与对照无差异,且接种点中间未呈现坏死状态(图2)。

2.2 菌株接种后病菌再分离

对人工接种产生病斑的病菌再分离和鉴定,得到每个菌株处理的3个随机病变样本平均再分离率为83.3%,证实了落叶松接种点处产生的坏死病斑是由原始接种的长喙壳真菌引起。

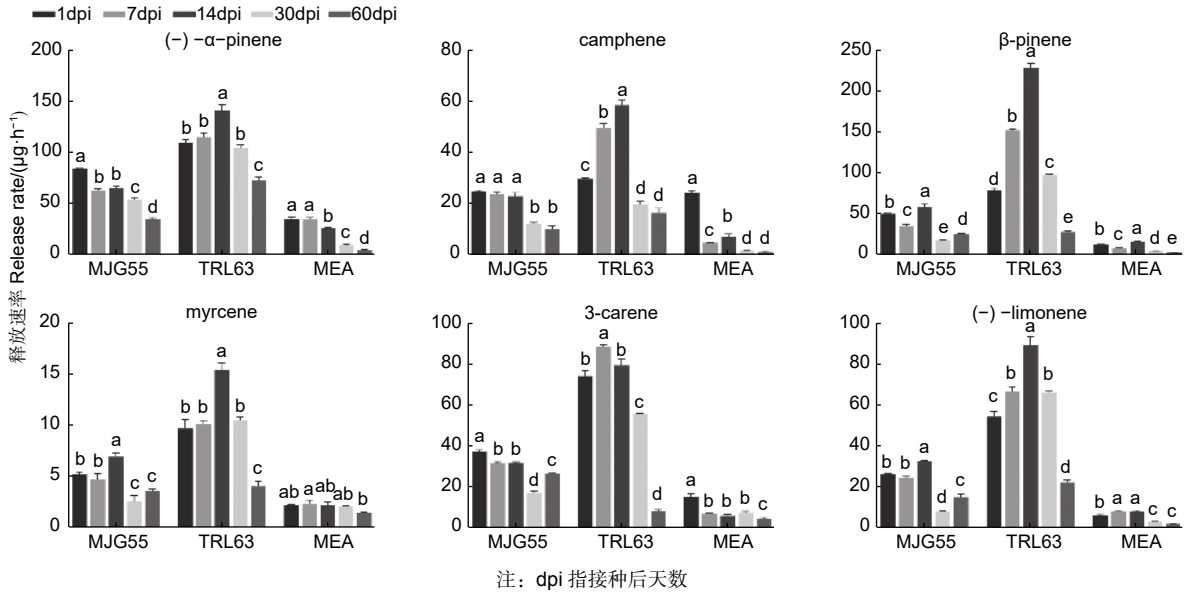
2.3 萜类测定结果

为了研究落叶松对长喙壳真菌的抗性反应,针对接种了 *E. fujiensis* (MJG55) 和 *E. laricicola* (TRL63) 菌株的落叶松,在接种后的1、7、14、30和60 d分别进行了单萜类物质测定。共检测到(-)- α -pinene、camphene、 β -pinene、myrcene、3-carene和(-)-limonene 6种单萜物质,结果如图3所示。总体而言,TRL63处理的单萜释放速率最高,MJG55处理次之,这两种处理与对照均存在显著差异。不同处理后单萜类物质释放速率随时间的变化规律略有不同,TRL63处理中各萜类物质呈现先升高后降低的变化趋势;MJG55和

MEA处理的myrcene也呈现先升高后降低的变化趋势,(-)- α -pinene、camphene和3-carene呈现下降的趋势。

3 讨论

真菌致病性是指真菌侵染活体植物组织后在其体内存活和发育并引起病害的能力^[20-21]。致病性用毒力来量化,毒力是通过测量寄主可视化症状的发展来确定的,包括病斑长度、边材干燥和蓝变面积、树脂反应以及树木的死亡率^[22-23]。病斑指寄主植物感染点周围韧皮部组织产生的变暗、凸起或轻微凹陷以及坏死等现象,用于评估真菌对寄主树的影响^[24]。长喙壳真菌的致病性一般是通过在成年树或幼苗上人工接种真菌来评估^[6, 25-26]。尽管在成年树上接种更接近小蠹虫高密度攻击后的自然接种,但幼苗接种是控制实验环境条件的另一选择^[22, 24]。此外,在接种量相当的情况下,幼苗接种更适合于确定小蠹虫伴生长喙壳真菌的毒力^[22]。因此,本研究选用5年生的落叶松苗木验证12种落叶松八齿小蠹伴生长喙壳真菌的致病性。结果表明,5种真菌对长白落叶松表现出不同程度的致病力,*E.*



注: dpi 指接种后天数

Note: dpi is the number of days post-inoculation

图 3 不同处理下落叶松的单萜释放速率

Fig. 3 Release rates of six monoterpenes by larch in different treatments

laricicola 致病力最强, *E. fujiensis* 和 *O. hongxingense* 次之, *O. peniculi* 和 *O. xinganense* 较弱 (图 2), 表明这几种真菌对落叶松存在潜在危害风险。其余 7 种 *Ophiostoma* 真菌在接种点处形成的韧皮部变色与对照无差异, 未表现出明显致病性。

本研究从亚洲落叶松八齿小蠹虫体上分离到 *E. laricicola* 真菌, 与之前关于 *E. laricicola* 和欧洲落叶松八齿小蠹 (*Ips cembrae*) 特异性伴生的认识存在差异^[27], 这可能是小蠹虫和真菌在扩散中形成了新的伴生关系。Redfern 等人最早发现 *I. cembrae* 与 *E. laricicola* 存在伴生关系, 且由这种伴生关系导致的复合侵染使落叶松发生顶梢枯死^[28]。*E. laricicola* 能在欧洲赤松韧皮部形成坏死病斑, 诱导木质素和树脂的积累, 同时减少欧洲赤松细胞壁游离原花青素、低分子量碳水化合物和非木质素成分的含量, 表明其能抑制寄主伤口反应早期阶段的木质化, 从而延缓寄主对于损伤的自我修复^[29]。本研究中, *E. laricicola* 接种在落叶松韧皮部形成的坏死病斑最大, 其诱导寄主产生的萜类物质呈现先升后降的趋势, 表明该菌具有较强致病力。因此, *E. laricicola* 与亚洲落叶松八齿小蠹形成的伴生关系可能更有利于小蠹虫的入侵, 对落叶松造成较强的破坏力。

以前有研究表明, 在人工接种条件下 *E. fujiensis* 能使 30 年生的健康日本落叶松死亡^[5]。

该菌对长白落叶松也表现出一定致病力, 并能引起长白落叶松的防御反应^[30]。本研究发现, *E. fujiensis* 菌株接种后落叶松韧皮部形成的坏死病斑显著大于对照处理, 但与 *E. laricicola* 相比病斑较小, 在 5 个调查时间段内大多数萜类物质的变化也较小。这与致病力更强的真菌诱导宿主防御萜类物质发生较大变化的结论一致^[16, 18, 31], 说明 *E. fujiensis* 菌株对长白落叶松的致病力较弱。本文研究结果与 Yamaoka^[5] 和周秀华等^[30] 的研究结果不同, 可能与树木的个体发育有关。有研究发现, 与成年树相比, 幼树具有更强的化学防御能力, 在抵抗病原菌侵染时产生更强烈的抗性反应^[32-33]。因此, 本研究在 5 年生落叶松上设定的单一接种量有限, 可能不足以造成严重影响, 以后将考虑增加接种量。

长喙壳真菌入侵寄主后, 寄主体内防御性萜类物质释放增加, 这些萜类化合物影响真菌的生长, 同时真菌也具有解毒能力, 甚至利用寄主产生的防御性化合物。Fang 等人研究发现, α -pinene、limonene 和 carene 等 8 种单萜类物质会抑制 *E. fujiensis* 的生长^[16]。Cale 等人发现, 在额外添加 α -pinene 的培养基上山松大小蠹伴生菌 *Grosmannia clavigera* 生长也受抑制^[31]; 而 limonene 的存在会促进 *G. clavigera* 和 *Ophiostoma ips* 真菌的生长。此外, 不同浓度的萜类对真菌生长的影响也存在差异, 如低浓度的 myrcene 能促进 *O. ips* 的生长,

而高浓度 myrcene 对 *O. ips* 生长发育无影响^[30]。Liu 等人认为长喙壳真菌能够利用寄主挥发物中的氮能来促进真菌的生长发育并合成小蠹虫生长发育所必需的麦角甾醇^[34]。小蠹虫和长喙壳真菌复合感染对寄主造成的危害远高于小蠹虫自身钻蛀树木造成的危害^[35], 因此, 研究小蠹虫和伴生真菌的内在联系以及伴生真菌对寄主防御的影响, 对于防治小蠹虫暴发危害具有重要理论指导意义。

4 结论

本研究通过人工接种试验发现, 小蠹虫伴生长喙壳真菌的不同菌株在落叶松接种点处产生的病斑大小存在差异, 有 5 种长喙壳真菌对长白落叶松表现出不同程度的致病力, *E. laricicola* 菌株致病力最强, *E. fujiensis* 和 *O. hongxingense* 次之, *O. peniculi* 和 *O. xinganense* 较弱。*Endoconidiophora* 真菌能够诱导寄主产生防御反应, 释放的萜类物质增加, 且在 *E. laricicola* 接种 14 d 左右达到峰值。长喙壳真菌被小蠹虫携带至新的寄主植物上, 在小蠹虫坑道周围产生的坏死病斑与寄主植物的死亡存在密切关系。本研究通过人工接种长喙壳真菌后测量病斑大小来评估真菌致病力, 对于优化小蠹虫综合治理策略提供理论依据与技术支持。

参考文献:

- [1] 杨静莉, 林 强, 陈国发. 落叶松八齿小蠹的危险性分析[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35 (3): 60-63.
- [2] HARRINGTON T C, FRAEDRICH S W, AGHAYEVA D N. *Rafaelea lauricola*, a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Lauraceae[J]. Mycotaxon, 2008, 104(2): 399-404.
- [3] BRASIER C M. Comparison of pathogenicity and cultural characteristics in the EAN and NAN aggressive subgroups of *Ophiostoma ulmi*[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1986, 87(1): 1-13.
- [4] WEBBER J F, HANSEN E M. Susceptibility of European and north - west American conifers to the North American vascular pathogen *Leptographium wageneri*[J]. European Journal of Forest Pathology, 1990, 20(6 - 7): 347-354.
- [5] YAMAOKA Y, WINGFIELD M J, OHSAWA M, et al. Ophiostomatoid fungi associated with *Ips cembrae* in Japan and their pathogenicity of Japanese larch[J]. Mycoscience, 1998(39): 367-378.
- [6] REPE A, BOJOVIĆ S, JURC M. Pathogenicity of ophiostomatoid fungi on *Picea abies* in Slovenia[J]. Forest Pathology, 2015, 45(4): 290-297.
- [7] WINGFIELD M J, SEIFERT K A, Webber J F. *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: taxonomy, ecology, and pathogenicity[M]. St. Paul: American Phytopathological Society, 1993
- [8] SIX D L. Ecological and evolutionary determinants of bark beetle—fungus symbioses[J]. Insects, 2012, 3(1): 339-366.
- [9] BENTZ B J, SIX D L. Ergosterol content of fungi associated with *Dendroctonus ponderosae* and *Dendroctonus rufipennis* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae)[J]. Annals of the Entomological Society of America, 2006, 99(2): 189-194.
- [10] DIGUISTINI S, WANG Y, LIAO N Y, et al. Genome and transcriptome analyses of the mountain pine beetle-fungal symbiont *Grosmannia clavigera*, a lodgepole pine pathogen[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(6): 2504-2509.
- [11] WADKE N, KANDASAMY D, VOGEL H, et al. The bark-beetle-associated fungus, *Endoconidiophora polonica*, utilizes the phenolic defense compounds of its host as a carbon source[J]. Plant Physiology, 2016, 171(2): 914-931.
- [12] ZHAO T, GANJI S, SCHIEBE C, et al. Convergent evolution of semiochemicals across Kingdoms: bark beetles and their fungal symbionts[J]. The ISME journal, 2019, 13(6): 1535-1545.
- [13] ZHAO T, AXELSSON K, KROKENE P, et al. Fungal symbionts of the spruce bark beetle synthesize the beetle aggregation pheromone 2-methyl-3-buten-2-ol[J]. Journal of Chemical Ecology, 2015(41): 848-852.
- [14] ZHAO T, KANDASAMY D, KROKENE P, et al. Fungal associates of the tree-killing bark beetle, *Ips typographus*, vary in virulence, ability to degrade conifer phenolics and influence bark beetle tunneling behavior[J]. Fungal Ecology, 2019(38): 71-79.
- [15] BOONE C K, AUKEMA B H, BOHLMANN J, et al. Efficacy of tree defense physiology varies with bark beetle population density: a basis for positive feedback in eruptive species[J]. Canadian Journal of Forest Research, 2011, 41(6): 1174-1188.
- [16] FANG J X, LIU M, ZHANG S F, et al. Chemical signal interactions of the bark beetle with fungal symbionts, and host/non-host trees[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(19): 6084-6091.
- [17] WANG Z, LIU Y, WANG H M, et al. Ophiostomatoid fungi associated with *Ips subelongatus*, including eight new species from northeastern China[J]. IMA Fungus, 2020, 11(1): 1-29.
- [18] LIU Y, ZHOU Q Z, WANG Z, et al. Pathophysiology and transcriptomic analysis of *Picea koraiensis* inoculated by bark beetle-vectored fungus *Ophiostoma bicolor*[J]. Frontiers in Plant Science, 2022(13): 944336.
- [19] RAJTAR N N, HELD B W, BLANCHETTE R A. Fungi from galleries of the emerald ash borer produce cankers in ash

- trees[J]. *Forests*, 2021, 12(11): 1509.
- [20] AGRIOS G N. *Plant pathology*[M]. England: Elsevier, 2005.
- [21] SHANER G, STROMBERG E L, LACY G H, *et al.* Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1992, 30(1): 47-66.
- [22] KROKENE P, SOLHEIM H. Assessing the virulence of four bark beetle - associated bluestain fungi using Norway spruce seedlings[J]. *Plant Pathology*, 1998, 47(4): 537-540.
- [23] MATUSICK G, SOMERS G L, ECKHARDT L G. Root lesions in large loblolly pine (*Pinus taeda* L.) following inoculation with four root - inhabiting ophiostomatoid fungi[J]. *Forest Pathology*, 2012, 42(1): 37-43.
- [24] MATUSICK G, ECKHARDT L G. Variation in virulence among four root-inhabiting Ophiostomatoid fungi on *Pinus taeda* L., *P. palustris* Mill, and *P. Elliottii* Engelm. seedlings[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2010, 32(3): 361-367.
- [25] MOLNAR A C. Pathogenic fungi associated with a bark beetle on alpine fir[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1965, 43(5): 563-570.
- [26] PAINE T D. Seasonal response of ponderosa pine to inoculation of the mycangial fungi from the western pine beetle[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1984, 62(3): 551-555.
- [27] GRÉGOIRE J C, EVANS H F. Damage and control of BAW-BILT organisms an overview[J]. *Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis*, 2004: 19-37.
- [28] REDFERN D B, STOAKLEY J T, STEELE H, *et al.* Dieback and death of larch caused by *Ceratocystis laricicola* sp. nov. following attack by *Ips cembrae*[J]. *Plant Pathology*, 1987, 36(4): 467-480.
- [29] POLYAKOVA G G, STASOVA V V, PASHENOVA N V. Defense response of pine stem phloem to wounding and treatment with mycelial extracts from *Ceratocystis laricicola*[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2011(58): 819-827.
- [30] 周秀华, 崔 磊, 邓 勋, 等. 落叶松八齿小蠹伴生真菌富士长喙壳的致病性研究[J]. *河南农业科学*, 2011, 40 (12): 102.
- [31] CALE J A, DING R, WANG F, *et al.* Ophiostomatoid fungi can emit the bark beetle pheromone verbenone and other semiochemicals in media amended with various pine chemicals and beetle-released compounds[J]. *Fungal Ecology*, 2019(39): 285-295.
- [32] PLATTNER A, KIM J J, DIGUISTINI S, *et al.* Variation in pathogenicity of a mountain pine beetle -associated blue-stain fungus, *Grosmannia clavigera*, on young lodgepole pine in British Columbia[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2008, 30(3): 457-466.
- [33] BARTON K E, KORICHEVA J. The ontogeny of plant defense and herbivory: characterizing general patterns using meta-analysis[J]. *The American Naturalist*, 2010, 175(4): 481-493.
- [34] LIU Y, ANASTACIO G R, ISHANGULYYEVA G, *et al.* Mutualistic Ophiostomatoid fungi equally benefit from both a bark beetle pheromone and host tree volatiles as nutrient sources[J]. *Microbial Ecology*, 2021(81): 1106-1110.
- [35] WINGFIELD M J, GARNAS J R, HAJEK A, *et al.* Novel and co-evolved associations between insects and microorganisms as drivers of forest pestilence[J]. *Biological Invasions*, 2016(18): 1045-1056.

Pathogenicity of Ophiostomatoid Fungi Associated with *Ips subelongatus*

LIU Ya¹, ZHOU Qin-zheng², WANG Hui-min¹, WANG Zheng³, LU Quan¹

(1. Key Laboratory of Forest Protection of National Forestry and Grassland Administration, Ecology and Nature Conservation Institute, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China)

Abstract: [Objective] The paper aims to investigate the harm degree and the potential risk of the ophiostomatoid fungi associated with *Ips subelongatus* by analyzing their pathogenicity. [Method] Through the artificial inoculation, 12 species of ophiostomatoid fungi isolated from the body and tunnel of *I. subelongatus* were inoculated on *Larix olgensis*. After 60 days, the lesion sizes were observed and measured, and the host resistance responses were tested by inoculation of *Endoconidiophora fujiensis* and *Endoconidiophora laricicola* on larch. [Result] The results showed that the area of lesions caused by *E. laricicola*, *E. fujiensis*, *Ophiostoma hongxingense*, *Ophiostoma peniculi* and *Ophiostoma xinganense* were larger than those of the control. The lesion areas produced by the other seven species of *Ophiostoma* showed no significant difference comparing with the control. The average lesion area produced by *E. laricicola* were the largest with $3.51 \pm 0.18 \text{ cm}^2$, and the content of terpenoids in the host showed a trend of first increasing and then decreasing, showing a strong pathogenicity. However, the average lesion area of *E. fujiensis* was $1.70 \pm 0.08 \text{ cm}^2$, and the content of host terpenoids showed a decreasing trend, exhibiting weak pathogenicity. [Conclusion] *E. laricicola* is highly pathogenic to larch, *E. fujiensis*, *O. hongxingense*, *O. peniculi* and *O. xinganense* are weakly pathogenic, while the other seven *Ophiostoma* fungi show no obvious pathogenicity.

Keywords: *Ips subelongatus*; *Endoconidiophora*; *Ophiostoma*; monoterpene

(责任编辑: 崔 贝)