

果园脐腹小蠹伴生(共生)真菌群落组成及功能分析

朱晓锋¹, 蔡淑琳², 苏卓文², 张殿朋², 宋博¹,
徐兵强¹, 阿布都克尤木·卡德尔¹, 杨森¹

(1. 农业部西北荒漠绿洲作物有害生物综合治理重点实验室/特色林果产业国家地方联合工程研究中心/
新疆农业科学院植物保护研究所, 乌鲁木齐 830091; 2. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097)

摘要:【目的】研究新疆果树脐腹小蠹伴生真菌种类或类群, 分析其功能, 为脐腹小蠹为害机理和伴生真菌开发利用提供基础信息。【方法】在新疆疏勒、英吉沙等地采集被害果树上的脐腹小蠹成虫, 利用 MiSeq 高通量测序技术和室内分离培养的方法, 鉴定其伴生真菌种类或类群, 通过 FUNGuild 功能预测和查阅相关文献, 分析其功能。【结果】脐腹小蠹伴生真菌主要由 7 个门、24 个纲、66 个目、124 个科的 221 个属组成; 体表和肠道伴生真菌群落无显著性差异, 体表伴生真菌优势菌群为 *Geosmithia*、*Saccharomycetales*、*Byssoschlamys* 和 *Wickerhamomyces*, 分别占群落的 29.55%、19.50%、8.20% 和 6.07%; 而肠道伴生真菌优势菌群为 *Geosmithia*、*Pleosporales* 和 *Gibellulopsis*, 分别占 42.14%、15.61% 和 6.97%; 伴生真菌以腐生营养型、植物致病性、病理-腐生营养型和动物致病性为主, 且不同果树脐腹小蠹均携带植物致病性真菌, 其中桃树脐腹小蠹携带植物致病型真菌比例最高, 为 19.06%; 室内分离鉴定出伴生真菌 13 种, 其中 *Geosmithia pallida*、*Yamadazyma mexicana* 和 *Cladosporium macrocarpum* 为植物病原菌, *Wickerhamomyces silvicola*、*Meyerozyma guilliermondii*、*Rhodotorula mucilaginosa* 和 *Aureobasidium pullulans* 为多种植物病原菌的拮抗菌。【结论】新疆果树脐腹小蠹普遍携带、传播植物病原真菌, 在防控脐腹小蠹的同时应注重果树枝干病害的防控, 防止 2 类有害生物协同为害, 加重危害; 而伴生真菌中的有益拮抗菌可作为植物病害的生物防治菌被开发利用。

关键词: 果园; 脐腹小蠹; 伴生真菌; 群落结构; 功能分析

中图分类号: S188

文献标识码: A

文章编号: 1001-4330(2022)03-0691-09

0 引言

【研究意义】小蠹虫与真菌伴生(共生)是长期协同进化的结果, 二者所形成的关系是众多共生体系中的典型代表之一^[1]。在植物-小蠹虫-伴生菌系统中, 小蠹虫与伴生菌形成了依赖性和稳定性的关系: 一方面小蠹虫作为媒介传播、扩散伴生菌, 实现伴生菌在寄主树体内入侵和繁殖; 另一方面小蠹虫依赖伴生菌克服寄主树木抗性, 实现小蠹虫在寄主树木上有效定殖。伴生菌可导致寄主树木韧皮部中脂类物质的增加, 改变韧皮

部中树脂含量和愈伤组织的产生, 决定小蠹虫能否成功定殖; 伴生菌在削弱寄主树木抗性、协助小蠹虫侵害寄主方面起着重要作用^[2, 3]。研究小蠹虫与其伴生菌的相互关系已成为系统研究小蠹虫综合控制策略与技术的重要组成部分^[4, 5]。脐腹小蠹 *Scolytus schevyrewi* Semenov (又名多毛小蠹 *Scolytus seulensis* Murayama) 记录于新疆天山东部^[6]。脐腹小蠹是新疆果树特别是杏 *Armeniaca vulgaris* Lam.、西梅 *Prunus domestica* L.、桃 *Amygdalus persica* L. 和扁桃(巴旦木) *Amygdalus communis* L. 等蔷薇科果树的重大害虫, 常造成果树

收稿日期(Received): 2021-05-17

基金项目: 农业部西北荒漠绿洲作物有害生物综合治理重点实验室(KFJJ20180102); 新疆杏产业技术体系建设专项

作者简介: 朱晓锋(1979-), 男, 河南许昌人, 研究员, 博士, 研究方向为特色林果有害生物综合防控, (E-mail) zxf5117@163.com

通信作者: 张殿朋(1980-), 男, 河南周口人, 副研究员, 博士, 研究方向为果疏采后病害生防菌剂, (E-mail) dreamstar26@126.com

枝、株的大量死亡^[7-9]。【本研究切入点】近年来在新疆脐腹小蠹仍然普遍为害,并未有减轻的趋势。亟需研究新疆南部地区果园脐腹小蠹伴生真菌种类,分析其功能。【拟解决的关键性问题】在新疆疏勒、英吉沙等地采集被害果树上的脐腹小蠹成虫,利用 MiSeq 高通量测序技术和室内分离培养的方法,鉴定其伴生真菌种类或类群,研究新疆果树脐腹小蠹是否携带、传播植物病原性真菌,为新疆果树脐腹小蠹的综合防控提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

在新疆南部地区疏勒、疏附、英吉沙、阿克陶县的杏、桃、扁桃、西梅等果园,每个果园随机选择 3 个采样点,每采样点随机选择被脐腹小蠹为害的枝干(长 40~50 cm,直径 7~10 cm)1~2 枝,带回实验室。在实验室内(25 ± 2)℃ 饲养,直至成虫羽化。表 1

表 1 样品采集地信息

Table 1 Geographic information of sample collection place

树种 Variety of tree	采集地点 Place	地理坐标 Geographical coordinate
西梅 Prune	疏勒县塔仔洪乡	76°1101.61", 39°1644.03
桃 Peach	英吉沙县城关镇	76°0816.32", 38°5557.12"
杏 Apricot	阿克陶县巴仁乡	75°3745.34", 39°2503.14"
扁桃 Almond	疏附县占敏乡	75°4940.57", 39°2412.08"

体表伴生真菌样品制备:实验室内,取从不同果树枝干羽化的健康成虫 5 头,分别放入含有 5 mL 灭菌水的无菌试管中,盖紧瓶盖后,放在振荡器上剧烈震荡 5~10 min,静置后取上清液 3 mL 备用,重复 3 次。

肠道伴生真菌样品制备:取从不同果树枝干羽化的健康成虫 5 头,分别放入 75% 的酒精中灭菌 1 min,再用蒸馏水冲洗 3 次。立即在无菌条件下解剖,取出肠道,放在含有 5 mL 的灭菌水的无菌试管中,盖紧瓶盖后,放在振荡器上剧烈震荡 5~10 min,静置后取上清液 3 mL 备用,重复 3 次。

1.2 方 法

1.2.1 样品总 DNA 提取和 PCR 扩增

采用 E. Z. N. A.® soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.) 对 4 种果树脐腹小蠹体表与肠道伴生真菌样品的 DNA 进行提取,并重复 3 次。利用 NanoDrop2000 进行检测 DNA 浓度和纯度,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量;用真菌引物 ITS1 F (5' - CTTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA - 3') 和 ITS2 R (5' - GCT-GCGTTCTTCATCGATGC - 3');对 V3 - V4 可变区进行 PCR 扩增,扩增程序为:95℃ 预变性 3 min,循环数(35 个) × (95℃ 变性 30s, 55℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 45s),最后 72℃ 延伸 10 min (PCR 仪:ABI GeneAmp® 9700 型)。再用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化,Tris - HCl 洗脱,2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor™ - ST (Promega, USA) 进行检测定量。根据 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA) 标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2 × 300 的文库。

构建文库步骤:(1)连接“Y”字形接头;(2)使用磁珠筛选去除接头自连片段;(3)利用 PCR 扩增进行文库模板的富集;(4)氢氧化钠变性,产生单链 DNA 片段。最后用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。

1.2.2 室内伴生真菌的分离与鉴定

1.2.2.1 培养基制备

试验所需各种培养基如下:酵母浸出粉胨葡萄糖琼脂 (YPD) 培养基、马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基、牛肉膏培养基、LB 培养基。

1.2.2.2 伴生真菌的分离与纯化

在超净工作台上,分别取 50 μL 体表和肠道伴生真菌样品均匀涂布在各种培养基上,并重复 3 次。体表伴生真菌分离平板直接放在室温 25℃ 条件下,肠道伴生真菌分离平板放入密封培养盒中(盒内分别放入微需氧产气袋和厌氧产气袋)再放在室温条件下,培养 48~72 h,待有菌落长出后,挑取单菌落纯化培养。并参考《真菌鉴定手册》等进行伴生真菌形态特征鉴定^[10]。

1.2.2.3 分子生物学鉴定

将分离纯化的伴生真菌,通过菌落特征,初步分类后,对 5.8S rRNA 序列进行扩增。引物采用

ITS1 : 5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3',
ITS4 : 5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3'; 基因组提取用 DNeasy Blood&Tissue Kit (QIAGEN, T50) 试剂盒按照说明进行提取;PCR 仪器为 BIO-Rad (MyCycler), PCR 程序如下所述:

序列扩增 PCR 反应体系: 基因组模板 2.0 μL 、10 \times PCR buffer (mg^{2+} free) 2.5 μL 、dNTP (2.5 mM each) 1.0 μL 、上游引物 0.5 μL 、下游引物 0.5 μL 、EX Taq (2.5 u/ μL) 0.5 μL 、ddH₂O 18.0 μL , 共 25 μL 。

反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; 然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 保持 60 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 保持 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 保持 60 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 保持 10 min, 1 个循环; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保温。

PCR 产物纯化及测序: 将 PCR 产物放在 1% 的琼脂糖凝胶中进行电泳, 电泳缓冲液为 1 \times TAE。电泳结束后将凝胶于 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 溴化乙锭中染色 15 ~ 20 min, 于 Alpha 凝胶成像仪中观察并记录结果, 然后将反应体系送至北京天一辉远公司进行测序。将获得的菌株序列在 NCBI 网址 <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> 进行 BLAST (Basic Local Alignmentsearch Tool) 比对, 结合病原菌的形态学特征, 对病原菌进行鉴定分类。

1.3 数据处理

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, 使用 FLASH 软件进行拼接: (1) 设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口开

始截去后端碱基, 去除质控后长度低于 50 bp 的序列; (2) barcode 需精确匹配, 引物允许 2 个碱基的错配, 去除模糊碱基; (3) 根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接, overlap 需大于 10 bp。去除无法拼接的序列。使用的 UPARSE 软件 (version 7.1 <http://drive5.com/uparse/>), 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类; 使用 UCHIME 软件剔除嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 数据库 (SSU123), 设置比对阈值为 70%。基于 OTU 计算稀释曲线、群落丰富度指数 (Chao1、ACE) 和群落多样性指数 (Shannon、Simpson) 等。高通量测序结果采用 FUNGuild v1.0 软件分析真菌功能分类。将获得 OTU 上传到 FUNGuild 分析平台 (<http://www.funguild.org/>) 进行分析; 下载运行结果后对结果进行筛选。

2 结果与分析

2.1 伴生真菌多样性

研究表明, 脐腹小蠹肠道真菌的 OTU 数量、ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数均高于体表, 各项指数均未达显著性差异 ($P < 0.05$), 果树脐腹小蠹肠道伴生菌多样性略高于体表, 但未达到显著性差异。表 2

表 2 脐腹小蠹伴生菌 Alpha 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index of fungi associated with *S. schevyrewi*

取样部位 Sampling part	Shannon	Simpson	ACE	Chao	OUT
肠道 Gut	1.80 \pm 0.69 ^a	0.46 \pm 0.18 ^a	179.05 \pm 122.77 ^a	177.79 \pm 122.65 ^a	177.00 \pm 122.55 ^a
体表 Body surface	1.71 \pm 0.51 ^a	0.40 \pm 0.16 ^a	88.07 \pm 23.47 ^a	87.20 \pm 23.45 ^a	85.00 \pm 23.44 ^a

注: 利用 SPSS 25.0 统计软件进行分析, 同列标有相同字母表示无显著性差异 (T 检验, $P = 0.05$), 下同

Note: Means were compared by ANOVA followed by the T test (SPSS11.5 for Windows). The data with the same letter are no significant difference in the same column

2.2 伴生真菌群落组成

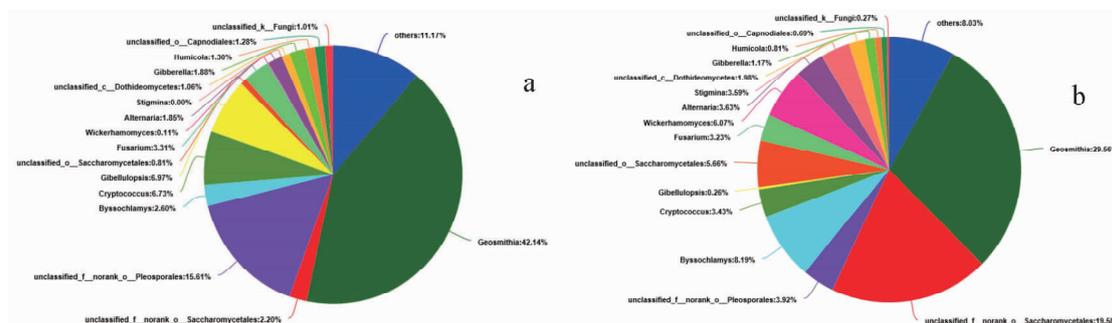
研究表明, 脐腹小蠹体表、肠道伴生真菌主要由 7 个门、24 个纲、66 个目、124 个科的 221 个属组成; 其中肠道优势菌群为 *Geosmithia*、*Pleosporales* 和 *Gibellulopsis*, 在群落组成中的占比分别为

42.14%、15.61% 和 6.97%; 体表优势菌群为 *Geosmithia*、*Saccharomycetales*、*Byssochlamys* 和 *Wickerhamomyces* 占比分别为 29.55%、19.50%、8.20% 和 6.07%。表 3, 图 1

表 3 脐腹小蠹体伴生真菌群落组成

Table 3 Community structure of fungi associated with *S. schevyrewi*

取样部位 Sampling part	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus
肠道 Gut	7	23	62	114	204
体表 Body surface	6	20	43	74	111
体表 + 肠道 Body surface and gut	7	24	66	124	221



注: a 肠道, b 体表

Note: a: gut, b: Body surface

图 1 脐腹小蠹体伴生真菌属水平群落组成

Fig. 1 Community structure of fungi associated with *S. schevyrewi* on genus level

2.3 伴生真菌 FUNGuild 功能预测

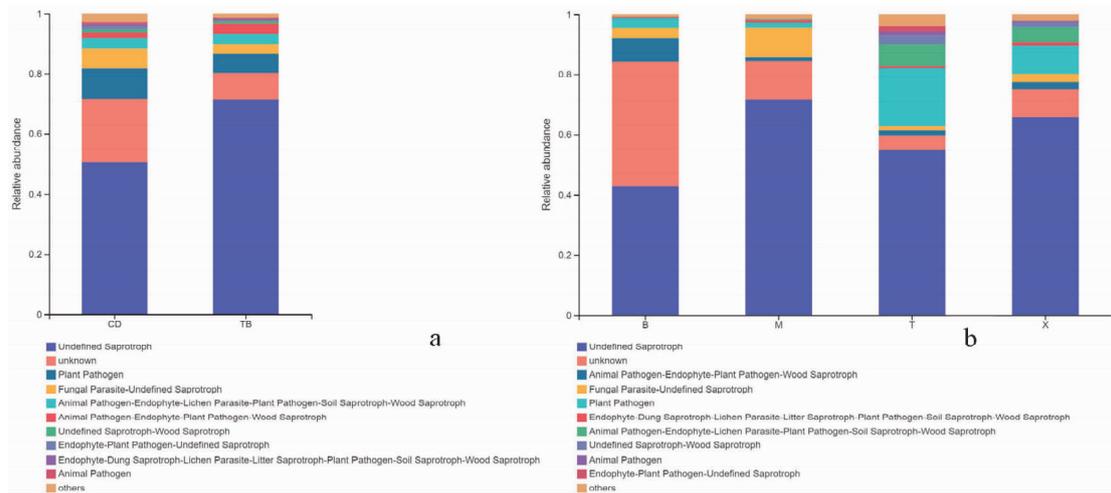
研究表明,脐腹小蠹伴生真菌营养型组成较为相似,以腐生营养型(saprotroph)、植物致病型(plant pathogen)、病理-腐生营养型(pathotroph-saprotroph)和动物致病型(animal pathogen)为主;在伴生菌群落中,腐生营养型和病理-腐生营养型的真菌比例较高,其中未定义的腐生真菌比例最高,在体表和肠道中分别占 71.57% 和 50.46%;其次是功能未知的真菌,在体表中占 8.60%,在肠道中占 21.35%;而体表携带植物致病真菌的比例为 6.25%,肠道为 9.92%;动物致病真菌在体表和肠道中的比例分别为 0.31% 和 0.65% (图 2a);在为害不同果树的脐腹小蠹伴生菌中,仍以腐生营养型和病理-腐生营养型的真菌为主,其中未定义的腐生真菌占比较高,在为害西梅树、杏树、桃树和扁桃树的脐腹小蠹携带比例依次降低,分别为 71.86%、65.95%、54.85% 和 42.86%;此外,为害 4 种果树的脐腹小蠹均携带植物致病真菌,其中为害桃树的脐腹小蠹携带植物致病真菌比例最高,为 19.06%,其次是为害杏树的脐腹小蠹,占 9.46%,再次是扁桃和西梅,分别为 3.25% 和 1.58%;而为害桃树、杏树和西梅的脐腹小蠹携带有动物致病真菌,分别占 1.28%、0.56% 和 0.10% (图 2b)。图 2

2.4 室内伴生真菌的分离与鉴定

研究表明,为脐腹小蠹伴生真菌分别为 10 个属的 13 种真菌,分别为新疆假丝酵母(*Candida xinjiangensis*)、*Candida peoriensis*、汉姆酵母(*Wickerhamomyces silvicola*)、威克汉姆西弗酵母(*Wickerhamomyces ciferrii*)、季也蒙毕赤酵母(*Meyerozyma guilliermondii*)、胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)、*Yamadazyma mexicana*、*Naganishia albida*、出芽短梗霉菌(*Aureobasidium pullulans*)、*Geosmithia pallida* 和大孢枝孢菌(*Cladosporium macrocarpum*),以及假丝酵母 1 种(疑似新种)(*Candida* sp.)和拟青霉 1 种(*Paecilomyces* sp.);脐腹小蠹体表伴生真菌有 12 种,肠道伴生真菌有 8 种。表 3

2.5 室内鉴定的伴生真菌功能

研究表明,在已鉴定脐腹小蠹伴生真菌中,7 种伴生真菌有相关功能报道,根据已报道相关功能,可分为 2 类,一类为植物致病真菌,有 *Y. mexicana*、*G. pallida* 和大孢枝孢菌;另一类为有益菌,对多种植物病原菌有杀菌、抑制或拮抗作用,有汉姆酵母、季也蒙毕赤酵母、胶红酵母和出芽短梗霉菌;而 *C. xinjiangensis*、*C. peoriensis*、威克汉姆西弗酵母和 *N. albida* 4 种真菌无相关功能的报道。表 4



注: CD: 肠道, TB: 体表, B: 扁桃树, M: 西梅树, T: 桃树, X: 杏树

Note: CD: Gut, TB: Body surface, B: Almond, M: Prune, T: Peach, X: Apricot

图 2 脐腹小蠹伴生真菌群落的营养型组成

Fig. 2 Composition of functional groups inferred of associated fungi with *S. schevyrewi*

表 3 脐腹小蠹伴生真菌的分离与鉴定

Table 3 Isolation and identification of associated fungi with *S. schevyrewi*

取样部位 Sampling part	中文名称 Chinese name	拉丁名 Scientific name
体表、肠道 Body surface and gut	出芽短梗霉菌	<i>Aureobasidium pullulans</i>
	新疆假丝酵母	<i>Candida xinjiangensis</i>
	假丝酵母(疑似新种)	<i>Candida</i> sp.
	汉姆酵母	<i>Wickerhamomyces silvicola</i>
	未命名	<i>Yamadazyma Mexicana</i>
	未命名	<i>Geosmithia pallid</i>
	未命名	<i>Candida peoriensis</i>
体表 Body surface	威克汉姆西弗酵母	<i>Wickerhamomyces ciferrii</i>
	大孢枝孢菌	<i>Cladosporium macrocarpum</i>
	季也蒙毕赤酵母	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>
	胶红酵母	<i>Rhodotorula mucilaginos</i>
肠道 Gut	未命名	<i>Naganishia albida</i>
	拟青霉	<i>Paecilomyces</i> sp.

3 讨论

昆虫共生菌主要有以下几方面的功能:一是营养和物质代谢功能;二是影响昆虫的生长发育;三是影响昆虫行为;四是保护昆虫的作用^[43]。通过对杏、扁桃、桃、西梅等果树脐腹小蠹伴生真菌的高通量测序和 FUNGuild 功能预测可以看出脐腹小蠹伴生有大量的真菌,且营养型丰富,含有腐生营养型真菌、植物致病型真菌、病理-腐生营养型真菌和动物致病型真菌;此外通过室内培养鉴定和功能分析伴生真菌中既有植物致病真菌又有对植物病原菌有杀

菌、抑制或拮抗作用的生防有益菌,与 FUNGuild 功能预测结果具有一定的一致性。脐腹小蠹伴生菌是一个微生态系统,作者认为这些伴生菌在脐腹小蠹寄主定殖过程中起着重要的协同作用。如植物致病真菌(如 *G. pallida*、*Y. mexicana* 和大孢枝孢菌等)被脐腹小蠹普遍携带并传播,为脐腹小蠹为害和克服寄主抗性提供有利条件。而一些有益菌(如 *W. silvicola*、季也蒙毕赤酵母、胶红酵母、出芽短梗霉菌对脐腹小蠹的为害起抑制作用。

酵母菌也是小蠹虫常见的伴生菌,大多数小蠹虫个体仅伴生一种或少量几种,并且存在于小

表 4 已鉴定果树脐腹小蠹伴生真菌功能分析

Table 4 Function analysis of the associated fungi with *S. schevyrewi*

种名 Specific name	功能 Function
新疆假丝酵母 <i>C. xinjiangensis</i>	为新疆果树脐腹小蠹伴生真菌鉴定之新种 ^[11] , 未有相关功能研究。
<i>C. peoriensis</i>	无相关研究报道。
汉姆酵母 <i>W. silvicola</i>	具有杀菌活性, 能够分泌 mycocin, 子囊菌的 45 属 140 余种真菌对 mycocin 敏感 ^[12] 。
威克汉姆西弗酵母 <i>W. ciferrii</i>	无相关报道。
季也蒙毕赤酵母 <i>M. guilliermondii</i>	为棘胫小蠹 <i>Platypus koryoensis</i> 伴生菌 ^[13] , 可抑制苹果青霉病、灰霉病 ^[14, 15] 、辣椒炭疽病菌、番木瓜炭疽病菌、芒果炭疽病 ^[16] 、稻瘟病、稻黑斑病、番茄细菌性枯萎病 ^[17] 。
胶红酵母 <i>R. mucilaginosa</i>	常作为生防菌防治水果采后病害 ^[18] ; 对梨果采后贮存过程中青霉菌、灰霉菌具控制效果 ^[19, 20] ; 对苹果灰霉病菌也有抑制作用 ^[15] 。
<i>Y. Mexicana</i>	为多种小蠹虫伴生菌 ^[21] , 可导致仙人掌袋腐病 ^[22] , 分布于中国苹果、梨果实表面, 具有一定的食品安全风险 ^[23] 。
<i>N. albida</i>	无相关报道。
出芽短梗霉菌 <i>A. pullulans</i>	对桃褐腐病、多种水果(葡萄、苹果、草莓)灰霉病等采后病害具有显著抑制作用 ^[24-31] , 对小麦镰刀菌和番茄早疫病有拮抗和防治作用 ^[32, 33] 。
<i>G. pallida</i>	常与小蠹虫伴生 ^[34-37] ; 为黑色枝小蠹 <i>Xylosandrus compactus</i> 伴生菌可引起黄连木、金银花等多种灌木枯萎死亡 ^[38] ; 也可抑制植物根系生长 ^[39] 。
大孢枝孢菌 <i>C. macrocarpum</i>	腐生菌 ^[40] , 可引起橄榄叶污斑病 ^[41] 、番茄煤污病 ^[42] 。

蠹虫的所有生命阶段, 也存在于卵室、蛹室、幼虫和成虫消化道以及寄主韧皮部和木质部组织中; 伴生酵母菌产生的挥发性化学物质具有广泛的生物活性, 低浓度下可吸引小蠹虫, 高浓度有驱避作用, 其挥发物也可以作为捕食性和寄生性天敌搜寻小蠹虫的重要物质; 伴生酵母菌还可以改变树体组织的化学成分或代谢有毒的萜类化合物, 因此, 伴生酵母菌对小蠹虫可能具有调节种间竞争、产生信息素、分解植物有毒物质、提供营养补充的作用^[44, 45]。如伴生酵母菌 *Ogataea pini* 产生的挥发物可显著促进西松大小蠹 *Dendroctonus brevicomis* 互惠共生菌 *Entomocorticium* sp. B 的生长, 抑制其病原菌 *Beauveria bassiana* 的生长, 并能参与到寄主植物组织中对萜类挥发物的反应之中, 改变韧皮部组织的化学环境, 产生乙醇, 二硫化碳 (CS₂) 和 Δ -3-萜烯(对小蠹虫具有引诱作用)^[45, 46]。在研究中在新疆果树脐腹小蠹伴生菌多种酵母菌, 如新疆假丝酵母、汉姆酵母、威克汉姆西弗酵母、季也蒙毕赤酵母、胶红酵母、*Y. mexicana* 和 *C. peoriensis*。其中, *Y. mexicana* 为植物致病真菌, 而汉姆酵母、季也蒙毕赤酵母、胶红酵母为多种致病菌的拮抗菌或生防菌, 此外, 新疆假丝酵母、*C. peoriensis* 和威克汉姆西弗酵母其

生态学功能未见报道, 其中新疆假丝酵母为新疆果树脐腹小蠹伴生真菌报道之新种。进一步研究脐腹小蠹伴生酵母等真菌的生物、生态学功能, 对进一步揭示脐腹小蠹的发生为害和综合治理具有重要意义。

4 结论

新疆南部地区果园脐腹小蠹伴生真菌落是一个微生态系统, 主要有腐生营养型、植物致病型、病理-腐生营养型和动物致病型真菌组成, 且不同果园脐腹小蠹均携带植物致病真菌, 其中为害桃树的脐腹小蠹携带比例最高, 为 19.06%; 室内鉴定出植物致病真菌 3 种、有益拮抗真菌 4 种。新疆果树脐腹小蠹普遍携带、传播植物病原菌, 在防控脐腹小蠹的同时应注重果树枝干病害的防控; 而伴生真菌中的有益拮抗菌可作为生物防治菌被开发利用。

参考文献 (References)

- [1] Langstrom B, Heliövaara K, Moraal L G, et al. *Bark and wood boring insects in living trees in Europe, A synthesis* [M]. Springer Netherlands, 2004.
 - [2] 唐明, 陈辉. 华山松大小蠹共生真菌对寄主树木的影响[J]. 林业科学, 1999, 35(6): 63-66.
- TANG Ming, CHENG Hui. Effect of symbiotic fungi of *Dendroc-*

- tonus armandi* on host trees [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 1999, 35(6): 63–66.
- [3] 叶辉. 小蠹虫伴生菌研究概况 [J]. 世界林业研究, 1997, (1): 31–36.
YE Hui. Research status of fungi associated with beetles [J]. *World Forestry Research*, 1997, (1): 31–36.
- [4] 吕全, 张星耀, 杨忠岐, 等. 红脂大小蠹伴生菌研究进展 [J]. 林业科学, 2008, 44(2): 134–142.
LÜ Quan, ZHANG Xinyao, YANG Zhongqi, et al. Progress in study on the fungi associated with *Dendroctonus valens* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2008, 44(2): 134–142.
- [5] 鲁敏, 孙江华. 危害松树的小蠹虫与其伴生菌的相互关系 [J]. 昆虫知识, 2008, 45(4): 518–527.
LU Min, SUN Jianghua. Interactions among scolytid bark beetles and the associated fungi during attacking the living conifers [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2008, 45(4): 518–527.
- [6] Wood, S. L., Bright, D. E. *A catalog of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera), Part 2: Taxonomic index* [M]. Brigham Young University: Monte L. Bean Life Science Museum, 1992.
- [7] 李宏, 朱晓锋, 阿布都克尤木, 等. 喀什地区多毛小蠹发生与为害规律 [J]. 植物保护, 2009, 35(6): 135–138.
LI Hong, ZHU Xiaofeng, Abudu Keyoumu, et al. Occurrence and damage of *Scolytus seulensis* in Kashi [J]. *Plant Protection*, 2009, 35(6): 135–138.
- [8] 张鲁豫, 赵莉, 李军如, 等. 轮台县杏树多毛小蠹生物学特性研究 [J]. 新疆农业科学, 2011, 48(9): 1655–1660.
ZHANG Luyu, ZHAO Li, LI Junru, et al. Study on bionomics of almond bark beetle in Luntai county [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48(9): 1655–1660.
- [9] 李江霖, 张涛, 李新唐, 等. 新疆果树多毛小蠹生物学特性及防治 [J]. 植物保护, 1995, 21(1): 8–10.
LI Jianglin, ZHANG Tao, LI Xintang et al. Study on bionomics of *Scolytus seulensis* Murayama and its control [J]. *Plant Protection*, 1995, 21(1): 8–10.
- [10] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
WEI Jingchao. Manual of fungal identification [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979.
- [11] ZHU X, Zhang D, Yang S, et al. *Candida xinjiangensis* sp. nov., a new anamorphic yeast species isolated from *Scolytus scheryreui* Semenov in China [J]. *Archives of Microbiology*, 2017, 199(2): 377–383.
- [12] Golub W I. Antifungal Activity of *Wickerhamomyces silvicola* [J]. *Mikrobiologiya*, 2015, 84(5): 529.
- [13] Yun, Y. H., Suh, D. Y., Yoo, H. D., et al. Yeast Associated with the Ambrosia Beetle, *Platypus koryoensis*, the Pest of Oak Trees in Korea [J]. *Mycobiology*, 2015, 43(4): 458–466.
- [14] Mokhtarnejad L, Etebarian H R, Fazeli M R, et al. Evaluation of different formulations of potential biocontrol yeast isolates efficacy on apple blue mold at storage condition [J]. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2011, 44(10): 970–980.
- [15] Fard F. A, Etebarian H R, Sahebani N. Biological control of gray mold of apple by *Candida membranifaciens*, *Rhodotorula mucilaginosa* and *Pichia guilliermondii* [J]. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 2012, 48(1): 17–26.
- [16] 高云慨, 张荣意, 钟利文, 等. 1 株新分离拮抗酵母菌株对芒果炭疽病生防效果及其分类鉴定 [J]. 热带生物学报, 2015, 6(1): 47–52.
GAO Yungai, ZHANG Rongyi, ZHONG Liwen, et al. Classification and identification of a new isolated yeast strain and its biocontrol activity against postharvest anthracnose of mango fruit [J]. *Journal of Tropical Biology*, 2015, 6(1): 47–52.
- [17] Nakatani M. Suppression of rice blast, cabbage black leaf spot, and tomato bacterial wilt diseases by TA-2 and the nature of protection [J]. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 2015, 65(7): 1–8.
- [18] 程哲. 热激处理增强生防酵母菌 (*Rhodotorula mucilaginosa*) 抗逆性及生防效力的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016.
CHENG Zhe. *Effect of heat on stress tolerance and biocontrol efficacy of the antagonistic yeast Rhodotorula mucilaginosa* [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016.
- [19] 束兆林, 杨红福, 陈红州, 等. 胶红酵母 (*Rhodotorula mucilaginosa*) 对梨果采后青霉病、灰霉病的控制效果 [J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 110–112.
SHU Zhaolin, YANG Hongfu, CHEN Hongzhou, et al. Control effect of *Rhodotorula mucilaginosa* on Postharvest penicilliosis and *Botrytis cinerea* of pear [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2015, 43(8): 110–112.
- [20] 徐占利. 梨果采后病害新型拮抗菌分离、筛选及安全性研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2010.
XU Zhanli. *Solation, screening and security study of new antagonists against the postharvest diseases of pear* [D]. Zhengjiang: Jiangsu University, 2010.
- [21] Rivera F. N, Gonzaiea E, Gomea Z, et al. Gut-associated yeast in bark beetles of the genus *Dendroctonus erichson* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2009, 98(2): 325–342.
- [22] Miranda M, Phaff H, Starmer W. *Pichia mexicana*, a new heterothallic yeast from cereoid cacti in the north American sonoran desert [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1982, 32(1): 101–107.
- [23] 王红. 苹果和梨果表面酵母多样性及其食用安全性研究 [D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2013.
WANG Hong. *The diversity and edible safety of yeasts on the surface of apple and pear* [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2013.
- [24] 王晨, 卢彩鸽, 刘德文, 等. 桃采后褐腐病生防酵母菌的筛选及鉴定 [J]. 河南农业科学, 2017, 46(5): 90–94.

- WANG Chen, LU Caige, LIU Dwen, et al. Screening and Identification of Yeast Strains to control brown rot of postharvest peaches [J]. Henan Agricultural Sciences, 2017, 46(5): 90 - 94.
- [25] Mari M, Martini C, Guidarelli M, et al. Postharvest biocontrol of monilinia laxa, *Monilinia fructicola* and *Monilinia fructigena* on stone fruit by two *Aureobasidium pullulans* strains [J]. *Biological Control*, 2012, 60(2): 132 - 140.
- [26] 巩文峰, 李月飞, 上官妮妮, 等. 出芽短梗霉对苹果采后灰霉病的防治 [J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(2): 251 - 257.
- GONG Wenfeng, LI Yuefei, SHANGGUAN Nini, et al. Control of Apple Postharvest Gray Mold by *Aureobasidium pullulans* [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2016, 32(2): 251 - 257.
- [27] Naik B S, Krishnappa M, Krishnamurthy Y L. Endophytic assemblage in L and antagonistic activities [J]. *Archives of Phytopathology & Plant Protection*, 2015, 48(1): 28 - 33.
- [28] 黄蓉, 杨龙, 张静, 等. 出芽短梗霉菌株 YW1 防治储藏期草莓灰霉病的研究 [J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(4): 531 - 537.
- HUANG Rong, YANG Long, ZHANG Jing, et al. Efficacy of *Aureobasidium pullulans* YW1 in suppression of gray mold on post-harvest strawberry fruits [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2013, 29(4): 531 - 537.
- [29] Zhang D, Davide S, Angelo G, et al. Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action [J]. *Biological Control*, 2010, 54(3): 172 - 180.
- [30] Skrimi B, Bajji M, Massart S, et al. Biocontrol of blue mold on apple fruits by *Aureobasidium pullulans* (strain Ach 1 - 1): in vitro and in situ evidence for the possible involvement of competition for nutrients [J]. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 2006, 71(3 Pt B): 1151 - 1157.
- [31] Adikaram N K B, Joyce D C, Terry L A. Biocontrol activity and induced resistance as a possible mode of action for *Aureobasidium pullulans* against grey mould of strawberry fruit [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2002, 31(3): 223 - 229.
- [32] Wachowska U, Glowacka K. Antagonistic interactions between *Aureobasidium pullulans* and *Fusarium culmorum*, a fungal pathogen of winter wheat [J]. *Biocontrol*, 2014, 59(5): 635 - 645.
- [33] Flood J, Rees J. Host produced toxins associated with antagonism by *Aureobasidium pullulans* against *Alternaria solani* on wounded tomato leaves [J]. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 1986, 28(1): 79 - 88.
- [34] Huang Y T, Kolarik M, Kasson M T, et al. Two new *Geosmithia* species in *G. pallida* species complex from bark beetles in eastern USA [J]. *Mycologia*, 2017, 109(5): 1.
- [35] Kolarik M, Hulcr J, Tisserat N, et al. *Geosmithia* associated with bark beetles and woodborers in the western USA: taxonomic diversity and vector specificity [J]. *Mycologia*, 2017, 109(10): 1.
- [36] Kolarik M, Kostovcik M, Pazoutova S. Host range and diversity of the genus *Geosmithia* (Ascomycota: Hypocreales) living in association with bark beetles in the Mediterranean area [J]. *Mycological Research*, 2007, 111(11): 1298 - 1310.
- [37] Kolarik M, Kubatova A, Pazoutova S, et al. Morphological and molecular characterisation of *Geosmithia putterillii*, *G. pallida* comb. nov. and *G. flava* sp. nov., associated with subcorticolous insects [J]. *Mycological Research*, 2004, 108(9): 1053 - 1069.
- [38] Vannini A, Contarini M, Faccoli M, et al. First report of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* and associated fungi in the Mediterranean maquis in Italy, and new host - pest associations [J]. *Eppo Bulletin*, 2017, 47(1): 100 - 103.
- [39] Cizkova D, Srutka P, Kolarik M, et al. Assessing the pathogenic effect of *Fusarium*, *Geosmithia* and *Ophiostoma* fungi from broad-leaved trees. [J]. *Folia Microbiologica*, 2005, 50(1): 59 - 62.
- [40] Bertelsen J R, De Neergaard E, Smedegaard P V. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat [J]. *Plant Pathology*, 2001, 50(2): 190 - 205.
- [41] 张绍升, 肖荣凤, 林乃铨, 等. 福建橄榄真菌性病害鉴定 [J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2002, 31(2): 168 - 173.
- ZHANG Shaosheng, XIAO Rongfeng, LIN Naiquan, et al. Diagnosis of Chinese olive fungal diseases in Fujian [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Ed.)*, 2002, 31(2): 168 - 173.
- [42] 郭书普. 叶类蔬菜病虫害防治原色图鉴 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2004.
- GUO Shupu. *Primary color map of pest control of leafy vegetables* [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 2004.
- [43] 王四宝, 曲爽. 昆虫共生菌及其在病虫害防控中的应用前景 [J]. 中国科学院院刊, 2017, 32(8): 863 - 872.
- WANG Sibao, QU Shuang. Insect symbionts and their potential application in pest and vector-borne disease control [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2017, 32(8): 863 - 872.
- [44] Davis T S. The ecology of yeasts in the bark beetle holobiont, A century of research revisited. *Microbial Ecology*, 2015, 69(4): 723 - 732.
- [45] Davis T S, Hofstetter R W. Reciprocal interactions between the bark beetle - associated yeast *Ogataea pini* and host plant phytochemistry [J]. *Mycologia*, 2011, 103(6): 1201 - 1207.
- [46] Davis T S, Hofstetter R W, Foster J T, et al. Interactions between the yeast *Ogataea pini* and filamentous fungi associated with the western pine beetle. *Microbial Ecology*, 2011, 61(3): 626 - 634.

Study on the Community Structure and Function of Fungi Associated (Symbiotic) with *Scolytus schevyrewi* That Infest Fruit Trees

ZHU Xiaofeng¹, CAI Shulin², SU Zhuowen², ZHANG Dianpeng², SONG Bo¹,

XU Bingqiang¹, Abudukeyoum Kader¹, YANG Sen¹

(1. Key Laboratory of Intergraded Management of Harmful Crop Vermin of China Northwestern Oasis, MOARA/ National Local Joint Engineering Research Center of Special Forestry and Fruit Industry /Institute of Plant Protection, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China; 2. Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: **[Objective]** To understand the species or group and analysis on the function of fungi associated (symbiotic) with *Scolytus schevyrewi* in fruit trees in the hope of providing basic information for utilization of these symbionts and revealing the damage mechanism of *S. schevyrewi*. **[Method]** *S. schevyrewi* adults were collected from infested fruit trees in Shule, Yingjisha and so on, the species and group of fungi associated with *S. schevyrewi* were identified by using MiSeq high-throughput sequencing technology and indoor isolation and culture methods. The functions of the fungi were analyzed by using FUN Guild and referring to relevant literatures. **[Result]** The fungi belonged to 7 Phylum, 24 Class, 66 Order, 124 Family, 221 Genus. The dominant fungal microflora of the surface of *S. schevyrewi* were *Geosmithia*, *Saccharomycetales*, *Byssosclamyces* and *Wickerhamomyces*, which accounted for 29.55%, 19.50%, 8.20% and 6.07% of the communities, respectively. The dominant fungal microfloras of the gut of *S. schevyrewi* include *Geosmithia*, *Pleosporales*, *Gibellulopsis*, accounting for 42.14%, 15.61% and 6.97%, respectively. The fungi were mainly saprotroph, plant pathogen, pathotroph-saprotroph and animal pathogen. *S. schevyrewi* adults, which infested apricot, plum, peach and almond trees, coexisted with a variety of plant-pathogenic fungi. The proportion of plant-pathogenic fungi was the highest in *S. schevyrewi* adults that infested peach trees, which was 19.06%. Thirteen associated fungi were isolated and identified in laboratory. Among them *Geosmithia pallida*, *Yamadazyma Mexicana* and *Cladosporium Macrocarpum* were plant pathogens. *Wickerhamomyces Silvicola*, *Meyerozyma Guilliermondii*, *Rhodotorula mucilaginosa* and *Aureobasidium pullulans* were antagonists of the plant-pathogens. **[Conclusion]** It was common to carry and spread plant-pathogens by *S. schevyrewi* in Xinjiang fruit trees. When preventing and controlling *S. schevyrewi*, attention should be paid to the prevention and control of fruit tree trunk diseases, so as to prevent the two kinds of pests from synergistic damage and aggravating the damage. The beneficial antagonistic fungi associated with *S. schevyrewi* should be exploited and used as biological control fungi for some plant diseases.

Key words: orchard; *Scolytus schevyrewi* Semenov; associated fungus; community structure; function

Fund project: Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northwest Oasis, Ministry of Agriculture (KFJJ20180102); The earmarked fund for apricot industry in Xinjiang research system

Correspondence author: ZHANG Dianpeng (1980-), male, Henan, Associate Professor, doctor, Research field: the research and product development of bioagents for fruit and vegetable diseases after harvest, (E-mail) dreamstar26@126.com