

松树材小蠹 *Xyleborus festivus* Eichhoff (Scolytinae: Xyleborini) 在中国南方的发生及其共生真菌研究

李 猷^{1,2*}, 林 伟³, 唐 也⁴, HULCR Jiri², 高 磊¹

(1. 上海市园林科学规划研究院, 城市困难立地生态园林国家林草局重点实验室, 上海 200232;
2. 佛罗里达大学森林资源与保护学院, 美国 32611; 3. 中华人民共和国拱北海关, 珠海 519001;
4. 北京忆江山园林科技股份有限公司, 北京 100081)

摘要 松树材小蠹 *Xyleborus festivus* Eichhoff 是东南亚地区为害松属植物的重要害虫, 为掌握该虫在中国南方的发生情况及其共生真菌种类, 本文通过检视标本馆标本和野外调查, 并对采集的标本携带的真菌进行分类培养, 利用分子生物学的方法对获得的真菌种类进行鉴定。本文提供了松树材小蠹的鉴别特征, 记录了其在中国南方的发生情况、地理分布、寄主等, 同时分离出共生真菌 7 种, 并确定其储菌囊中的优势真菌——*Raffaelea* cf. *arxii*。松树材小蠹对寄主植物的危害极有可能引起或加速其他病害发生, 应引起相关部门的重视。

关键词 共生; 材小蠹属; 松脂; 虫道; 寄主植物

中图分类号: S 763.38 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2019001

Xylebrous festivus Eichhoff (Scolytinae: Xyleborini) in southern China: distribution, host range and symbiotic fungi

LI You^{1,2*}, LIN Wei³, TANG Ye⁴, HULCR Jiri², GAO Lei¹

(1. Shanghai Academy of Landscape Architecture Science and Planning, Shanghai Engineering Research Center of Landscaping on Challenging Urban Sites, Shanghai 200232, China; 2. School of Forest Resources and Conservation, University of Florida, Gainesville 32611, USA; 3. Gongbei Customs District P. R. China; Zhuhai 519001, China; 4. Beijing Yijiangshan Landscape Design Co. Ltd., Beijing 100081, China)

Abstract The ambrosia beetle, *Xyleborus festivus* Eichhoff, is a widespread and dominant ambrosia beetle on pines in Southeast Asia, but it has not yet been reported from China. Here we reported the distribution, host range, and symbiotic fungi of *X. festivus* in China by using newly collected data and information from the National Zoological Museum of China (NZMC), Chinese Academy of Science (IZCAS) and the University of Florida. *X. festivus* infested *Pinus kesiya*, *P. massoniana*, *P. yunnanensis*, and *P. taiwanensis*. It occurred in south China including Yunnan, Guizhou, Guangxi, Guangdong, Fujian and Taiwan. A redescription, illustration, and identification of similar species were included. The symbiotic fungi of *X. festivus* were isolated from their mycangia. Seven fungi were obtained, of which *Raffaelea* cf. *arxii* dominated in the mycangia of beetle from various locations.

Key words symbiont; *Xyleborus*; resin; gallery; host plant

小蠹是重要的林业害虫, 多数小蠹通过钻蛀树皮组织直接破坏植物营养和水分的传导导致植物死亡, 部分取食树皮的小蠹进化为利用真菌, 协同为害树木

的攻击模式^[1]。例如脐腹小蠹 *Scolytus schevyrewi* 的伴生菌 *Ophiostoma ulmi* 和 *O. novo-ulmi*、红脂大小蠹 *Dendroctonus valens* 与其伴生菌 *Leptographi-*

收稿日期: 2019-01-01 修订日期: 2019-03-18

基金项目: 上海市绿化和市容管理局攻关项目(G180201); 上海市自然科学基金(19ZR1451300); 美国国家自然科学基金(USA-National Science Foundation)

致 谢: 感谢美国密歇根州立大学 Sarah Smith 博士和韩国森林昆虫多样性研究所 Sangwook Park 博士提供的相关资料, 特致谢忱!

* 通信作者 E-mail: yourreason@hotmail.com

um procerum、云南切梢小蠹 *Tomicus yunnanensis* 与其伴生菌 *Grosmannia yunnanensis* 等^[2-4], 这类小蠹虽然利用真菌, 但仍主要取食树皮韧皮部组织, 部分小蠹仅以其种植在虫道内的真菌为食, 即食菌小蠹。有些食菌小蠹的主要共生真菌是植物病原菌, 通过小蠹的传播直接导致寄主植物死亡, 例如小圆胸小蠹 *Eurwallacea fornicatus* 的共生菌 *Fusarium ambrosius*、红湾鳄梨材小蠹 *Xyleborus glabratus* 的共生菌 *Raffaelea lauricola*^[5-7]。松树材小蠹 *Xyleborus festinus* Eichhoff 也是一种食菌小蠹, 为害松属植物, 但国内对其研究甚少, 小蠹分类专著《中国经济昆虫志》(第二十九册 鞘翅目 小蠹科)^[8] 以及最近出版的《中国小蠹科分类纲要》^[9] 均无该种记录, 仅有少数外文文献对其在中国的分布做了简单介绍, 针对其共生真菌的种类鉴定报道也很有限^[10]。

松属植物 *Pinus* spp. 因其耐干旱耐瘠薄等特点成为我国南方重要造林树种, 其中马尾松 *P. massoniana* 占我国南方人工林面积的 30%~40%^[11] 成为南方丘陵地区群落演替的先锋树种^[12] 以及重要的森林景观树种^[13]。2014 年—2018 年作者在对南方松树病虫害进行调查时发现, 南方多省市的马尾松遭到小蠹为害, 经鉴定确认为松树材小蠹。虽然我国曾在云南和台湾发现过松树材小蠹^[14], 但尚无相关描述和发生记录。本文在全面调查松树材小蠹的基础上, 对松树材小蠹在我国的分布和寄主情况进行核对和更新, 并对其共生真菌进行了分离培养和种类鉴定, 一方面深入了解松树材小蠹的为害特征, 弥补研究上的空白, 另一方面也为今后松树林的管理以及松树材小蠹的防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 检视标本

检视存放在中国科学院动物研究所国家动物博物馆、拱北海关和美国佛罗里达大学森林昆虫实验室的标本, 显微镜下观察松树材小蠹形态特征并进行鉴定, 记录并整理样本采集信息。

1.2 样本采集

2014 年—2018 年在福建、江西、广东、广西、海南、贵州、云南和安徽的松树林进行小蠹害虫的调查, 抽查上述各地的主要松树林区, 在树林中观察到

小蠹的为害状后对其进行采集, 记录并统计松树材小蠹发生情况和发生数量, 将采集到的小蠹样本连同虫道一起装入采集袋内, 后期于实验室进行鉴定以及后续真菌分离培养。

1.3 共生真菌

1.3.1 共生真菌的分离培养

菌种分离采用马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基。材小蠹属的储菌囊位于头部口器后方^[15-16], 因此需将鉴定后的松树材小蠹头部切下, 将切下的头部浸泡并粉碎于 500 μ L 的 PBS 溶液中, 将 PBS 溶液稀释 10 倍和 100 倍。将稀释的溶液涂抹在 PDA 平板培养基上。平板置于恒温 25℃ 培养箱内黑暗条件下培养。定时观察, 对分离到的真菌进行纯化^[17], 每例样本分离得到的所有菌株都以每种形态至少一个纯化进行保存。

1.3.2 真菌鉴定

采用分子生物学的方法对所有分离获得的真菌种类进行鉴定。用手术刀从纯化菌株培养基上刮取 50 mg 分离纯化的菌丝, 采用 RED Extract-N-Amp™ Tissue PCR Kit 提取 DNA, 并用引物 ITS1F: 5'-CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3' 和 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' 扩增 ITS 序列。LROR: 5'-ACCCGCTGAACTTAGC-3' 和 LR5: 5'-ACCCGCTGAACTTAAGC-3' 扩增 28S DNA 序列。PCR 反应体系为 25 μ L: 模板 1 μ L, Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0; TaKaRa Bio Inc.) 12.5 μ L, 引物各 1 μ L, 蒸馏水 9.5 μ L。扩增程序为: 95℃ 4 min; 94℃ 30 s, 55℃ 40 s, 72℃ 120 s, 循环 34 次; 72℃ 5 min。对 PCR 扩增产物的测序由金唯智生物科技有限公司(Genewiz Inc.)完成。将测得的 ITS 和 28S 序列在 GenBank 进行比对, 对获得的同源序列进行序列分析。

2 结果与分析

2.1 分类地位和鉴别特征

2.1.1 分类地位

松树材小蠹 *Xyleborus festinus* Eichhoff, 1876 属于鞘翅目象甲科 Curculionidae 小蠹亚科 Scolytinae 材小蠹族 Xyleborini 材小蠹属 *Xyleborus*, 异名有 *Xyleborus pinicola* Eggers 1930、*Xyleborus detectus* Schedl 1975、*Xyleborus pinivorus* Browne 1980^[18-19]。

2.1.2 鉴别特征

雌虫体棕红色至黑色(图 1a),足及触角棕黄色,前胸背板和头部颜色略浅。体长 3.7~3.9 mm。被毛淡黄色至金黄色,细长、稀疏,近均匀分布,额部绒毛略密集。

头部额面扁平,表面微网状,额面无中隆线;复眼肾形,凹刻位于前缘近顶端 1/3 处;触角鞭节近圆形,触角基部位位于复眼凹刻的下缘。

前胸背板长大于宽,长宽比约为 1.2;背面观前胸背板前缘圆凸,背板前 1/2 为瘤区,后 1/2 为刻点区;侧面观背板距前缘 1/2 处凸起为最高点,并向前缘呈弧形强烈下倾,后 1/2 平直;在背板前缘无凸起瘤凸;瘤区底面密网状,刻点区细小刻点,近乎平滑。

小盾片表面光亮,近正三角形,末端钝圆。

鞘翅长度约为前胸背板长度的 1.6 倍,为两翅合宽的 1.7 倍;背面观鞘翅两侧缘呈直线延伸,平行,在近翅末端 1/5 处开始收缩;侧面观鞘翅前 3/4 水平向后延伸(图 1b),后 1/4 向下倾斜形成斜面(翅坡),无明显的斜面起点;刻点沟不明显凹陷,刻点较大呈圆形,边缘清晰(图 1c);斜面上侧缘边较短;第 1~3 沟间部有 5~6 个微小齿突,上下排成纵列。

足扁宽,前足腿节约为胫节宽的 1.5 倍,前足胫节侧缘近端部生有 2 个小齿,前缘有 5 个小齿。

腹板色浅光亮,略凸起,1~4 腹板后缘及两侧具稀疏微小刻点,第 5 腹板近半圆形。

雄虫较雌虫略小,体色浅,无后翅,前胸背板前缘中部有一个角状凸起(图 2)。

2.1.3 与近似种的区别

松树材小蠹体长大于多数材小蠹,寄主范围较窄(见 2.2.2),在调查过程中发现具有近似生态位为害松树的只有阔面方胸小蠹 *Eurwallacea validus* 一种。此外在检视中国科学院动物研究所国家动物博物馆馆藏标本时,作者发现部分松树材小蠹标本被鉴定为长亮方胸小蠹 *E. praeivius*(异名:长亮材小蠹 *X. praeivius*)。同时由于阔面方胸小蠹和坡面方胸小蠹 *E. interjectus* 形态相似,所以本文以这 4 种小蠹编写的检索表如下:

- 1 前胸背板前缘较宽平,背面观呈正方形 2
前胸背板前缘明显弧形,背面观不呈正方形 3
- 2 鞘翅上刻点行 2 在翅坡末端处有瘤凸,鞘翅坡面

较为平缓 坡面方胸小蠹
鞘翅上刻点行 2 在翅坡末端处无瘤凸,鞘翅坡面较陡 阔面方胸小蠹
3 体长大于 3.5 mm,前胸背板红棕色,鞘翅颜色较深 松树材小蠹
体长小于 3.3 mm,前胸背板与鞘翅一样为深红色 长亮方胸小蠹(中国暂无分布)
阔面方胸小蠹和坡面方胸小蠹完全成熟个体体黑色,体型较松树材小蠹更粗壮,前胸背板前缘较宽平,背面观呈正方形,而松树材小蠹前胸背板颜色为红棕色。



a: 背面; b: 侧面; c: 鞘翅斜面; 比例尺 a~b=1 mm
a: Dorsal; b: Lateral; c: Declivity. Scale: a-b=1 mm

图 1 松树材小蠹雌虫形态特征

Fig. 1 Female morphology of *Xyleborus festivus*



松树材小蠹雄虫 比例尺=1 mm
Male of *Xyleborus festivus* Scale=1 mm

图 2 松树材小蠹雄成虫

Fig. 2 Male of *Xyleborus festivus*

2.2 分布与寄主

2.2.1 分布

松树材小蠹主要分布在东南亚地区,除我国外已有记载的国家有:日本、泰国、越南和缅甸^[14, 20]。在中国,之前已有记载发生的省份有台湾和云南^[14]。通过2014年—2018年的野外调查,在福建(福州、泉州)、广东(深圳)、贵州(贵阳)和云南(普洱)的松树林发现松树材小蠹。另外通过检视标本馆藏标本,发现松树材小蠹在福建(邵武、南靖、将乐),湖南(江华、绥宁),江苏(南京),贵州,云南(峨山、思茅、勐腊、勐阿、小勐养、邱北),广西(南宁),广东(珠海)都有分布。

2.2.2 寄主

松树材小蠹寄主范围较窄,只为害松属植物,而多数材小蠹则寄主广泛^[14]。松树材小蠹的寄主有:思茅松 *Pinus kesiya*、南亚松 *P. latteri*、马尾松 *P. massoniana*、云南松 *P. yunnanensis*(新寄主)和黄山松 *P. taiwanensis*(新寄主)。

2.3 发生与为害

目前还没有发现松树材小蠹暴发为害,其主要为害病树、弱树及树干有伤口的树,尤其喜好为害削树皮割完松脂的马尾松主干伤口。在贵州省贵阳市森林公园的调查中发现,刚割取松脂的马尾松主干受害率超过90%,受害的树干胸径从20 cm到45 cm不等,蛀孔直径约为1.6 mm,蛀孔周围一圈木质部组织变为黑色,虫道与树的枝干垂直,虫道周围的植物组织变为黑色。在福建省福州市鼓山和旗山的调查中还发现松树材小蠹出现在松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 为害的马尾松主干上,同时也在防治松材线虫的松墨天牛 *Monochamus alternatus* 诱捕器陷阱中出现。

2.4 共生真菌

通过野外采集调查,获得来自福建省福州市松树材小蠹活虫样本3份和贵州省贵阳市的样本2份,对样本储菌囊真菌分离纯化获得真菌7种(表1)。只有 *Raffaelea* cf. *arxii* 同时出现在所有地点的样本中且菌落形成单位(cfu)较高,判断为松树材小蠹储菌囊真菌的优势种。

表1 松树材小蠹储菌囊真菌出现频数及各真菌菌落形成单位

Table 1 Frequencies and colony-forming unit of the fungi isolated from *Xyleborus festvus*

真菌 Fungus	贵州省贵阳市(样本数=2) Guiyang, Guizhou (N=2)		福建省福州市(样本数=3) Fuzhou, Fujian (N=3)	
	检出样本数 Cumulative frequency	真菌菌落形成单位/cfu Colony-forming unit	检出样本数 Cumulative frequency	真菌菌落形成单位/cfu Colony-forming unit
<i>Ambrosiozymba platypodis</i>	1	3 000	0	
<i>Flavodon flavus</i>	0		1	1
<i>Leptographium</i> sp.	0		2	400~2 000
<i>Ophiostoma saponiodorum</i>	1	7 000	0	
<i>Raffaelea</i> cf. <i>arxii</i>	2	2 000~8 000	3	1 800~7 000
<i>R. subfusca</i>	1	16 000~25 000	0	
<i>Sarocladium strictum</i>	1	14 000	0	

3 讨论

为害松树的食菌小蠹(ambrosia beetle)的相关研究较少^[10]。究其原因,一方面是由于食菌小蠹的发生比树皮小蠹更为隐蔽,食菌小蠹直接钻蛀到木质部中,采集时必须剖开树干木质部,采集难度大;另一方面是因为专一选择松树的食菌小蠹种类较少。大多数材小蠹的寄主广泛,目前已记录的仅为害松树的材小蠹除了松树材小蠹还有分布于北美的毛列材小蠹 *Xyleborus pubescens*^[18]。

材小蠹族因为独特的单倍二倍性(haplodiploid)及其与真菌的共生关系^[16],近些年成为研究新

热点,尤其是在陆续报道其共生的真菌随小蠹入侵到新环境引起新植物寄主大量死亡的情况后更是引起了大量关注^[21-22]。食菌小蠹的为害与其共生真菌的发生密不可分,因此对食菌小蠹的研究往往需要虫和菌同时进行。材小蠹属 *Xyleborus* 是食菌小蠹的典型代表,其幼虫和成虫完全以上一代雌性成虫种植在虫道中的共生真菌为食。*Raffaelea* 已经被证实是多数材小蠹主要的共生真菌种类之一^[6-7, 10],我们调查也发现 *Raffaelea* cf. *arxii* 在两个地点采集的小蠹储菌囊中都大量存在,可基本确认该种为松树材小蠹的共生真菌优势种,但是由于样本的死亡等原因导致本研究未能利用其他采集点的样品进

行研究,研究样本量存在偏少的问题,下一步需继续采集不同地点的样品以确认,并同时就真菌对植物的致病力进行研究。

多数材小蠹发生在衰落木和濒死木上,少数蛀食腐烂木^[10,17, 21-23]。少数情况下 *Raffaelea* 可以引起植物枯萎加快小蠹的为害,但本研究中通过对在马尾松上松树材小蠹的发生情况进行观察,暂未发现松树材小蠹及其共生真菌直接造成寄主植物死亡,也未发现松树材小蠹和松材线虫存在直接关系,但松树材小蠹的为害极有可能引起或加速其他病害在寄主植物上发生,这些都需要后续研究加以考证和确认。

参考文献

- [1] 鲁敏, 孙江华. 危害松树的小蠹虫与其伴生菌的相互关系[J]. 应用昆虫学报, 2008, 45(4): 518–527.
- [2] LU Min, WINGFIELD M J, GILLETTE N E, et al. Complex interactions among host pines and fungi vectored by an invasive bark beetle [J]. New Phytologist, 2010, 187(3): 859–866.
- [3] YAMAOKA Y, MASUYA H, CHUNG W H, et al. The teleomorph of *Leptographium yunnanense*, discovered in crosses among isolates from Thailand, China, and Japan [J]. Mycoscience, 2008, 49(4): 233–240.
- [4] BRASIER C M. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics [J]. Mycopathologia, 1991, 115(3): 151–161.
- [5] ESKALEN A, GONZALEZ A, WANG D, et al. First report of a *Fusarium* sp. and its vector tea shot hole borer (*Euxwallacea fornicatus*) causing *Fusarium* dieback on avocado in California [J]. Plant Disease, 2012, 96(7): 1070.
- [6] FRAEDRICH S, HARRINGTON T, RABAGLIA R, et al. A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the southeastern United States [J]. Plant Disease, 2008, 92(2): 215–224.
- [7] DREADEN T J, CAMPBELL A S, GONZALEZ - BENECKE C A, et al. Response of swamp bay, *Persea palustris*, and redbay, *P. borbonia*, to *Raffaelea* spp. isolated from *Xyleborus glabratus* [J/OL]. Forest Pathology, 2017, 47(1): e12288. DOI:10.1111/efp.12288.
- [8] 殷惠芬, 黄复生, 李兆麟, 等. 中国经济昆虫志(第二十九册), 鞘翅目小蠹科[M]. 北京:科学出版社, 1984: 1–205.
- [9] 黄复生, 陆军. 中国小蠹科分类纲要[M]. 上海:同济大学出版社, 2015: 1–141.
- [10] SKELTON J, JUSINO M A, LI You, et al. Detecting symbi-
- oses in complex communities: the fungal symbionts of bark and ambrosia beetles within Asian pines [J]. Microbial Ecology, 2018, 76(3): 839–850.
- [11] 国家林业局. 中国森林资源报告——第七次全国森林资源清查[M]. 北京:中国林业出版社, 2009: 1–67.
- [12] 项文化, 田大伦. 不同年龄阶段马尾松人工林养分循环的研究[J]. 植物生态学报, 2002, 26(1): 89–95.
- [13] 李超, 杜燕, 孟伟, 等. 浅析马尾松人工纯林景观改造树种选择与配置设计[J]. 热带林业, 2015, 43(4): 21–24.
- [14] BEAVER R A, LIU L Y. An annotated synopsis of Taiwanese bark and ambrosia beetles, with new synonymy, new combinations and new records (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) [J]. Zootaxa, 2010(2602): 1–47.
- [15] FRANCKE-GROSMANN H. Ectosymbiosis in wood-inhabiting insects [M]//HENLY S M. Symbiosis: Associations of invertebrates, birds, ruminants, and other biota, vol. 2. New York: Academic Press, 1967: 141–205.
- [16] HULCR J, STELINSKI L L. The ambrosia symbiosis: from evolutionary ecology to practical management [J]. Annual Review of Entomology, 2017, 62(1): 285–303.
- [17] LI You, SIMMONS R D, BATEMAN C C, et al. New fungus-insect symbiosis: culturing, molecular, and histological methods determine saprophytic polyporales mutualists of *Ambrosiodmus* ambrosia beetles [J/OL]. PLoS ONE, 2015, 10(9): e0137689. DOI:10.1371/journal.pone.0137689. eCollection2015.
- [18] WOOD S L. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae): a taxonomic monograph [M]. Great Basin Naturalist Memoirs, 1982, 6: 1–1361.
- [19] SMITH S M, BEAVER R A, COGNATO A I. New synonymy, new combinations and other taxonomic changes in Japanese xyleborine ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) [J]. Zootaxa, 2018, 4521(3): 391–403.
- [20] KNÍŽEK M. Scolytinae [M]//LOBL I, SMETANA A. Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Curculionoidea I, vol. 7. Apollo Books, Stenstrup, 2011: 204–251.
- [21] HARRINGTON T C, FRAEDRICH S W, AGHAYEVA D N. *Raffaelea lauricola*, a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Lauraceae [J]. Mycotaxon, 2008, 104(2): 399–404.
- [22] MENDEL Z, PROTASOV A, SHARON M, et al. An Asian ambrosia beetle *Euxwallacea fornicatus* and its novel symbiotic fungus *Fusarium* sp. pose a serious threat to the Israeli avocado industry [J]. Phytoparasitica, 2012, 40(3): 235–238.
- [23] 李成德. 森林昆虫学[M]. 北京:中国林业出版社, 2003: 319–320.