

松树蜂与其共生真菌的互利共生关系

李大鹏, 石娟, 骆有庆*

(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)

摘要: 松树蜂 *Sirex noctilio* Fabricius 是一种重要的国际林业检疫性害虫, 主要危害针叶树, 原产欧亚大陆和北非。近 100 多年来, 先后入侵大洋洲(新西兰和澳大利亚)、南美洲(乌拉圭、阿根廷、巴西和智利)、北美洲(加拿大和美国)以及南非。2013 年 8 月, 在中国黑龙江省内首次发现松树蜂, 目前发现其主要危害樟子松。松树蜂能与一种淀粉韧革菌属 *Amylostereum* 的真菌 *Amylostereum areolatum* (Fr.) Boidin 形成严格的互利共生关系, 该虫除直接钻蛀树木外, 还能通过产卵行为将自身毒素腺体分泌的毒素和体内共生真菌随同虫卵一起注入寄主树木体内, 形成“虫-毒-菌”3 个致害因子相互协作的特殊危害方式, 加速树势的衰弱并造成寄主树木死亡。本文就国内外松树蜂与其共生菌互利共生关系的研究进行了综述, 分别从结构与功能的层次上对其互利共生关系进行了梳理和总结, 重点阐释了松树蜂与共生菌的营养共生关系, 松树蜂携带传播共生菌的机制, 共生菌的种群遗传学以及松树蜂毒素和共生菌在危害寄主树木时的协同关系等。以期开展关于松树蜂的专项研究提供一些合理的建议, 同时为积极有效地防控该害虫提供科学依据。

关键词: 松树蜂; 共生菌; 淀粉韧革菌属; 昆虫毒素; 互利共生; 外来入侵生物

中图分类号: Q965.8 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2015)09-1019-11

Mutualism between the Eurasian woodwasp, *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) and its fungal symbiont *Amylostereum areolatum* (Russulales: Amylostereaceae)

LI Da-Peng, SHI Juan, LUO You-Qing* (Beijing Key Laboratory for Forest Pest Control, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The Eurasian woodwasp, *Sirex noctilio* Fabricius is an important forestry quarantine pest in the world, which prefers to attack conifer. It is native to Eurasia and North Africa. However, over the last one hundred years, *S. noctilio* has been gradually introduced to New Zealand and Austria in Oceania, then to South American countries including Uruguay, Argentina, Brazil, and Chile and later to Canada, the US and South Africa. The woodwasp was first detected in Heilongjiang Province, in the northeast region of China in August, 2013, where it mainly attacked *Pinus sylvestris*. A very strict mutualistic relationship exists between *S. noctilio* and the white rot fungus *Amylostereum areolatum* (Fr.) Boidin. *S. noctilio*'s terrible attacks on host tree are in fact the act of its distinctive oviposition: female insects drill 1–5 small holes in the host tree through the bark to the cambium, injecting phytotoxic venom together with the arthrospores of *A. areolatum*, and sometimes an egg, into the holes. Together, the three pathogenic factors, *Sirex* larvae, symbiotic fungus and phytotoxic venom, act to weaken or even kill the tree. Particular attention should be paid to this important forest invading pest to China on account of its potential economic and ecological importance to Chinese forest ecosystem. In this article we reviewed the current researches on the symbiotic relationship between the woodwasp *S. noctilio* and its fungal symbiont *A. areolatum*. A great number of research findings on this subject were compared and

基金项目: 林业公益性行业科技专项“重大森林虫灾监测预警的关键技术研究”(201404401)

作者简介: 李大鹏, 男, 1985 年 9 月生, 河南洛阳人, 博士研究生, 研究方向为林业外来入侵生物防控, E-mail: woshilidapeng@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: youqingluo@126.com

收稿日期 Received: 2015-04-13; 接受日期 Accepted: 2015-05-28

summarized, in which the trophobiosis between *Sirex* larvae and the fungus, the spread of the fungus by woodwasps, the population structure of the fungus and the collaborative damage effect of the *Sirex* venom and the fungus on host tree were discussed in details. We attempted to provide some reasonable suggestions for the future study and open new insight into the control on this pest effectively.

Key words: *Sirex noctilio*; fungal symbiont; *Amylostereum*; insect venom; mutualism; invasive species

松树蜂 *Sirex noctilio* Fabricius, 属于膜翅目 (Hymenoptera) 树蜂科 (Siricidae) 树蜂属 *Sirex*, 是一种重要林木钻蛀性害虫。该虫寄主广泛, 主要危害针叶树, 包括松属 *Pinus*、冷杉属 *Abies*、落叶松属 *Larix*、云杉属 *Picea*、黄杉属 *Pseudotsuga* 和南洋杉属 *Araucaria* 的一些针叶树种, 其中最为偏好松属 *Pinus* 树种 (Spradbery and Kirk, 1978, 1981; Madden, 1988)。松树蜂原产欧亚大陆和北非, 在原产地主要危害死亡的或者濒死的松属类寄主, 被认为是一种次要害虫 (Spradbery and Kirk, 1978)。然而, 自近代以来, 随着国际经济一体化进程的逐步加快, 各国之间的经济往来也日趋频繁。在 20 世纪初, 松树蜂随同相关林木产品的国际贸易从原产地被携带到南半球, 并在随后近 100 多年内先后入侵到大洋洲 (新西兰和澳大利亚)、南美洲 (乌拉圭、阿根廷、巴西和智利)、北美洲 (加拿大和美国), 以及南非, 并在这些入侵地区先后暴发成灾 (Neumann and Minko, 1981; Hoebeke *et al.*, 2005; Hurley *et al.*, 2007)。因此, 松树蜂被联合国粮农组织 (FAO) 列为国际重大林业检疫对象, 并成为全球范围内最受关注的害虫之一。

2013 年 8 月, 在黑龙江省首次发现并明确这一国际重大林业检疫对象——松树蜂已入侵我国 (骆有庆等, 待发表资料)。松树蜂能严重危害寄主树木, 其强大的破坏力体现在, 除直接钻蛀树木外, 还能通过产卵行为将自身分泌的毒素和体内的共生真菌随同虫卵一起注入寄主树木体内, “虫-毒-菌”3 个致害因子相互协作, 共同危害寄主树木, 加速树势的衰弱甚至造成寄主树木死亡。从 20 世纪 40–50 年代至今, 众多科学家围绕松树蜂、毒素、共生菌以及基于虫菌互利共生关系开展了大量系统的研究 (Slippers *et al.*, 2012)。其中涉及松树蜂的分类及系统发育学、基因及分子生物学、种群生态学、种群遗传学和生物防治 (Boissin *et al.*, 2012; Slippers *et al.*, 2015); 松树蜂毒素的成分组成、毒理学和对寄主树木的致病机理 (Boros, 1968; Wong and Crowden, 1976; Bordeaux *et al.*, 2014; Bordeaux, 2014); 松树蜂共生菌的系统发育学、基因及分子生

物学和种群遗传学等诸多研究领域 (Slippers *et al.*, 2001, 2002, 2003, 2012)。面临松树蜂这一国际重大林业检疫对象在我国首次发现并有可能在我国扩散的紧急现状, 有必要对前人的相关研究进行总结, 一是梳理研究思路, 为开展松树蜂及其共生菌关系研究提供一些合理的建议; 二是为积极有效地防控该害虫提供科学依据。

1 松树蜂及其共生菌

1.1 松树蜂的形态特征与生物生态学特性

松树蜂成虫体长约为 10~44 mm, 雌性与雄性成虫相比体型略大, 圆柱形, 触角黑色; 雌虫头部、胸腹部具蓝色金属光泽, 胸足桔黄色, 腹部末端呈现角突状 (图 1: A); 雄虫头胸部具蓝色金属光泽, 腹部基部和末端呈黑色, 中部桔黄色。后足粗大、黑色 (图 1: B); 松树蜂幼虫乳白色且为圆筒形, 老熟时其体长约 10~20 mm, 头宽约 3~5 mm 左右; 蛹类型属于离蛹, 乳白色, 长约为 10~18 mm; 松树蜂的卵呈梭形, 长约 1.4 mm, 中部最宽处直径约 0.5 mm, 乳白色 (Schiff *et al.*, 2012)。

松树蜂的世代长短不固定, 一般 1~3 年 1 代, 随所处的环境因子变化 (Morgan, 1968), 其中环境温度因子最为关键, 对该虫的生长发育起着制约作用。松树蜂的发育起始温度为 6.8℃, 且有效积温需达到 2 500℃·日才能完成其生长发育 (Madden, 1981)。但在一些热带地区, 如澳大利亚东南部, 松树蜂只需 3 个月便可完成一个世代, 而在北欧的挪威和丹麦, 由于低温松树蜂需 3 年才能完成一代 (Neumann and Minko, 1981)。

在北半球, 成虫一般在 5 月至同年 9 月羽化, 羽化盛期集中在 7 月末和 8 月初; 在南半球, 一般在 10 月至次年 2 月羽化, 羽化盛期集中在 12 月末和次年 1 月初 (Neumann and Minko, 1981)。雄虫一般早于雌虫 3~5 d 羽化 (Morgan and Stewart, 1966)。阳光充足、温暖的天气 (>21℃) 有利于雌雄虫的交配, 而潮湿阴冷的天气不利于其交配。成虫期寿命较短, 雄虫大概 12 d, 雌虫只有 5 d (Neumann and

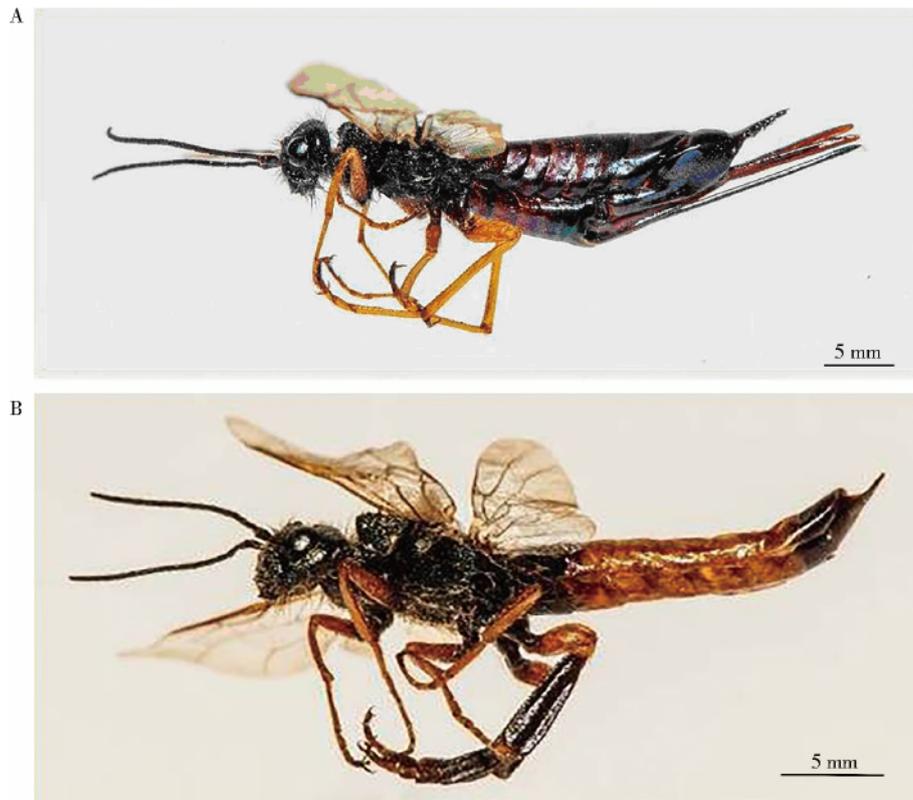


图1 松树蜂雌(A)、雄(B)成虫(侧面观)(骆有庆拍摄)

Fig. 1 Female (A) and male adults (B) of *Sirex noctilio* (lateral view) (photographed by LUO You-Qing)

Minko, 1981)。交配过的雌虫可产雌性后代,也可产雄性后代,未交配的雌虫可孤雌生殖,但所产后代均为雄虫(Madden, 1988)。通过一系列的探测行为选择好合适的寄主后,雌虫在树干的3~14 m范围内产卵,产卵器穿过树皮形成一个产卵孔,继而插入木质部,形成1~4个的产卵道(Rawlings and Wilson, 1949; Morgan and Stewart, 1966),深度可达10~19 mm(Gilbertson, 1984; Madden, 1988)。在一个产卵孔,雌虫至多产3粒卵,且每粒卵分别产于各自产卵道内(Madden, 1974);在产卵的同时,雌虫将体内的昆虫毒素和贮藏的共生菌菌丝片段或分节孢子通过产卵器注入一个没有卵的产卵道内(Coutts and Dolezal, 1969)。在某些情况下雌虫在产卵道内并不产下卵,而只是将共生菌和毒素注入产卵道,有可能是雌虫为了判断该寄主是否适合产卵的探测行为(Coutts and Dolezal, 1969; Spradbery, 1977),这种行为被一些研究者认为具有降低寄主的防御能力,为松树蜂对该寄主的后续进攻奠定基础的作用(Madden and Irvine, 1971)。

随各分布地区环境温度的不同,松树蜂卵的孵化一般需16~28 d(Morgan and Stewart, 1966)。早

龄(3龄之前)幼虫活动空间基本在产卵道附近,不向木质部深处钻蛀;3龄后(包括3龄)的幼虫开始向木质部深处钻蛀(Taylor, 1981)。松树蜂的幼虫龄期数不固定,一般有6~12个龄期,这主要取决于寄主树木木质部内部的温湿度条件(Morgan, 1968; Madden, 1981)。幼虫经历的龄期越多,最后发育成的成虫体型越大(Madden and Coutts, 1979; Madden, 1981)。幼虫经历完所有龄期后随即开始向外钻蛀,在距树皮3 cm左右处形成蛹室,虫体进入预蛹期,预蛹期持续4周左右(Madden, 1981)。松树蜂幼虫在寄主树木体内的钻蛀而形成的蛀道一般呈U型。松树蜂成虫有较强的飞行能力,研究表明该虫的扩散能力为30~50公里/年(Hoebeke *et al.*, 2005)。

1.2 松树蜂共生菌的分类地位

目前,已经确定了松树蜂的共生菌是一种白腐真菌,种名为 *Amylostereum areolatum* (Fr.) Boidin, 属于担子菌门(Basidiomycota),伞菌纲(Agaricomycetes),红菇目(Russulales),韧革菌科(Stereaceae),淀粉韧革菌属 *Amylostereum* (Morgan, 1968; Taylor, 1981; Slippers *et al.*, 2003)。其所在属是由法国真菌分类学家J. Boidin于1958年正式

提出的,在此之前由于该属物种的大部分形态特征符合韧革菌属 *Stereum* 的描述,所以该属物种一直被

外,淀粉韧革菌属还有其他的特征:能产生一种光滑并富含淀粉的担孢子,囊状体有外壳包裹且呈透明色和子实体边缘向上翻转(图2)。



图2 真菌 *Amylostereum areolatum* 的子实体 (Slippers *et al.*, 2012)

Fig. 2 Fruitbodies of *Amylostereum areolatum* (Slippers *et al.*, 2012)

1.3 树蜂科昆虫与其共生菌的种类对应关系

除了松树蜂,树蜂科的大部分昆虫均能与某种真菌形成共生关系,且共生真菌均属于淀粉韧革菌属。树蜂与真菌形成的这种共生关系是严格的,而

且一一对应。具体来讲,一种树蜂只携带一种真菌,它们形成的虫菌共生关系是极其稳定的 (Tabata and Abe, 1997, 1999; Slippers *et al.*, 2003); 同时,一种真菌可以分别和不同种的树蜂形成共生关系(表1)。

表1 已知树蜂科昆虫共生菌种类总结

Table 1 A summary of symbiotic relationship between siricid species and *Amylostereum* species

树蜂种名 Siricid species	共生菌种名 <i>Amylostereum</i> species	文献出处 References
松树蜂 <i>Sirex noctilio</i>	<i>Amylostereum areolatum</i>	Gaut, 1969
蓝黑树蜂 <i>S. juvencus</i>	<i>A. areolatum</i>	Gaut, 1970; Slippers <i>et al.</i> , 2003
新渡户树蜂 <i>S. nitobei</i>	<i>A. areolatum</i>	Slippers <i>et al.</i> , 2003; Nielsen <i>et al.</i> , 2009
<i>S. nitidus</i>	<i>A. areolatum</i>	Nielsen <i>et al.</i> , 2009
<i>S. edwardsii</i>	<i>A. areolatum</i>	Nielsen <i>et al.</i> , 2009
<i>S. nigricornis</i>	<i>A. areolatum</i>	Tabata <i>et al.</i> , 2000; Slippers <i>et al.</i> , 2003
<i>S. cyaneus</i>	<i>A. chailletii</i>	Tabata <i>et al.</i> , 2000
<i>S. imperialis</i>	<i>A. chailletii</i>	Tabata <i>et al.</i> , 2000
<i>S. areolatus</i>	<i>A. chailletii</i>	Tabata <i>et al.</i> , 2000; Slippers <i>et al.</i> , 2003
<i>S. californicus</i>	<i>A. chailletii</i>	Tabata <i>et al.</i> , 2000; Slippers <i>et al.</i> , 2003
泰加大树蜂 <i>Urocerus gigas</i>	<i>A. chailletii</i>	Slippers <i>et al.</i> , 2003
<i>U. augur augur</i>	<i>A. chailletii</i>	Slippers <i>et al.</i> , 2003
<i>U. augur sah</i>	<i>A. chailletii</i>	Slippers <i>et al.</i> , 2003
<i>U. japonicas</i>	<i>A. ferreum</i>	Tabata and Abe, 1997
<i>U. antennatus</i>	<i>A. ferreum</i>	Tabata and Abe, 1999

2 虫菌互利共生关系在松树蜂雌虫内部组织构造特点上的体现

松树蜂在与其共生菌的长期合作中逐步适应彼此,形成了高度进化的共生关系(Cartwright, 1929; Francke-Grosman, 1939; Morgan, 1968)。这种高度进化的适应性体现在松树蜂体内高度特化的器官构造: 松树蜂雌性成虫在体内形成一对专门贮藏共生菌菌丝片段和分节孢子的囊状器官——贮菌囊,该器官位于产卵器的基部,通过细管与中输卵管相连,这种连接方式能够保证雌虫在产卵的同时将贮菌囊内的真菌菌丝片段和分节孢子一并注入寄主体内;另外,在雌性幼虫体两个侧面也形成了一对专门贮藏共生菌的外部器官,位于第1和第2腹节之间的褶皱处(Francke-Grosman, 1939; Parkin, 1941)。

Thomsen 和 Harding(2011)在松树蜂和共生菌的共生关系研究中,通过对松树蜂雌成虫腹部的解剖和观察,展示了松树蜂雌成虫第2-8腹节内部主要组织和器官,基本明确了内部生殖系统的组织构造和结构特点以及贮菌囊、毒素分泌腺体和毒素囊等重要组织和器官的分布位置;并从贮菌囊中成功分离、培养出树蜂的共生菌菌株。进一步的细微观察发现,贮菌囊位于产卵器的基部,通过管状组织和中输卵管相连;毒素囊也位于产卵器基部附近的位置,与其他组织和器官相比,毒素囊占据了雌虫腹部相当大的空间,呈淡黄透明色,类似绿豆粒般大小球状晶体,肉眼可见,毒素囊同样通过管状组织和中输卵管相连。值得注意的是,管状组织将贮菌囊、毒素囊和生殖系统紧密地联系在一起,形成了一个类似“三通管”的结构,贮菌囊、毒素囊和卵巢位于“三通管”的3个分支方向,3个分支最终汇集到中输卵管。“三通管”结构印证了松树蜂雌虫产卵行为的特点,充分地体现了结构和功能的高度一致性。这种组织结构方式保证了松树蜂雌虫在产卵时能够将卵巢中的卵、贮菌囊贮藏的共生菌菌丝片段(分节孢子)和毒素囊中的毒素一起注入寄主体内。

3 虫菌互利共生关系在功能上的体现

3.1 共生菌对松树蜂的有益作用

共生菌对松树蜂完成整个生长发育过程有着至关重要的意义,特别是在幼虫期,共生菌尤为重要。雌性成虫完成产卵后,虫卵不会立即孵化,需要休眠

一段时间,而随同虫卵一并产下的共生菌菌丝片段和分节孢子一进入寄主体内便开始在虫卵的周围空间生长,并和昆虫毒素一起作用于寄主,降低寄主的抗性,为卵的孵化创造有利的环境;如果共生菌的生长受到限制,那么卵的孵化也会延迟受阻(Madden, 1981)。松树蜂幼虫期的生长同样离不开共生菌,早龄(3龄之前)幼虫只能以共生菌菌丝为食,3龄后期的幼虫也只能取食被共生菌侵染过的木材(Morgan and Stewart, 1966; Taylor, 1981)。当环境条件越有利于共生菌的生长时,幼虫也能生长得越好,最后形成的成虫体型也越大;反之,当共生菌的生长受到抑制时,幼虫的生长也会受阻,甚至饿死(King, 1966)。共生菌作为一种白腐真菌,能够降解寄主树木的木质素和纤维素等大分子物质,破坏寄主树木的内部结构,为幼虫的钻蛀提供便利(Gilmour, 1965)。

3.2 松树蜂对共生菌的有益作用

共生菌能够借助松树蜂的产卵行为寻找到合适的寄主,松树蜂产卵前的一系列寄主搜寻和定位行为为其后代和共生菌寻找到了相对适宜的生活场所,这对共生菌在寄主体内占据有利的生态位和资源是至关重要的。此外,一头雌虫所产的雌性后代完成幼虫期和蛹期进入成虫期,又会重新携带着共生菌攻击新的寄主,后代携带的共生菌是母本携带共生菌的无性繁殖系,具有相同的遗传结构,因此,共生菌可随着松树蜂的扩散而实现其无性繁殖系的远距离传播(Vasiliauskas *et al.*, 1998; Thomsen and Koch, 1999; Vasiliauskas and Stenlid, 1999; Slippers *et al.*, 2001)。

4 松树蜂毒素的研究进展

4.1 松树蜂毒素对寄主树木的危害

松树蜂雌性成虫体内有专门制造昆虫毒素的腺体,毒素腺分泌的毒素能够储存在一个被称为毒素囊的器官内,该器官位于产卵器的基部,通过细管与中输卵管相连成为雌虫生殖系统的一部分(Boros, 1968)。雌虫产卵时能够将体内贮藏的共生菌菌丝片段和分节孢子,毒素以及虫卵一并注入寄主体内(Talbot, 1977; Coutts, 1969b)。寄主树木在遭到松树蜂攻击(产卵)2周后,会出现一系列典型的早期症状。通常树冠上的幼嫩针叶叶色变黄、萎蔫呈下垂状,出现早衰现象,在树干松树蜂产卵处流出树脂类胶状物质,呈现“泪珠”状(Rawlings, 1948;

Coutts, 1968, 1969b; Fong and Crowden, 1973)。因为这些早期症状发生在卵孵化之前,且共生菌尚处萌发阶段,所以研究者推测受害树木的这些症状是由毒素造成的(Coutts, 1969b)。这种推测很快被后续关于松树蜂毒素的生理接种实验所证实。研究者从松树蜂雌虫分离出毒素囊和毒素腺体、均匀混合并配制成毒素溶液,人工接种到整株活树和离体培养的幼嫩枝条,结果发现两种类型的实验对象均出现了上述野外情况下受害寄主树木的症状,且测试的幼嫩枝条对毒素更为敏感,其表现出的受害状严重程度随毒素溶液浓度的变化更为明显,呈线性相关(Fong and Crowden, 1973; Spradbery, 1973; Wong and Crowden, 1976)。此外,这些生理实验还发现,毒素可以破坏整个树体的水分平衡,导致树体上部尤其是树冠上的幼嫩针叶内部膨压和渗透压下降,蒸腾速率降低(Madden and Coutts, 1979)。因为受害树体内部的蒸腾作用受到抑制,水分不能有效地从树体根部流向顶部,所以受害树体内部温度升高,高出周围环境温度 $1 \sim 5^{\circ}\text{C}$,而健康的植株内部温度一般低于环境温度 $2 \sim 5^{\circ}\text{C}$ (Jamieson, 1957)。毒素溶液处理的幼嫩枝条还出现呼吸速率提高、针叶内的淀粉含量提高的现象,可能跟枝条韧皮部的输导组织受到毒素影响有关,这些实验现象与野外受害植株的表现症状基本相符(Madden and Coutts, 1979)。

4.2 松树蜂毒素的主成分分析及毒理学研究

关于膜翅目昆虫的毒素,以往的研究对象主要集中在跟人类健康密切相关且有重大经济价值的种属,如蜜蜂科(Apidae)和胡蜂科(Vespidae)的一些昆虫。这些研究表明,膜翅目昆虫毒素是一种极其复杂的混合物,含有多种小分子量物质和生物活性多肽(Danneels *et al.*, 2010; Asgari and Rivers, 2011; Colinet *et al.*, 2013; Moreau, 2013)。与此类似,早期的研究学者指出,松树蜂毒素是一种由粘多糖和蛋白质等物质组成的呈酸性的混合物,含有多种酶、活性多肽和其他小分子量物质(Boros, 1968; Wong and Crowden, 1976)。后有研究者利用化学成分分离技术结合生理实验,证实毒素混合物中的一种具有生物活性的多肽是引起寄主受害症状出现的关键因子,接种该活性多肽的供试枝条出现了萎蔫、失绿变黄等典型症状。这种活性多肽的分子量为 $2 \sim 6 \text{ kDa}$,能溶于水且具有一定的热稳定性,当毒素随着松树蜂产卵进入寄主体内后该小分子量多肽能够通过寄主木质部的导管在寄主体内扩散(Wong

and Crowden, 1976)。在此基础上Bordeaux利用分馏和反相高效液相层析的方法分离纯化得到了这种小分子量的活性肽,经氨基酸测序和核磁共振分析,发现该活性肽由11个氨基酸(SEGPROGTKRP)组成,分子量为 1.85 kDa ,并且命名为Noctilisin;此外他还利用基因芯片和实时荧光定量PCR技术筛选出火炬松受毒素处理后表达量显著提高的基因,同时发现活性肽Noctilisin不仅能导致供试枝条出现萎蔫、失绿变黄等典型症状,还能显著地促进相关基因表达量的上调(Bordeaux *et al.*, 2014; Bordeaux, 2014)。

5 松树蜂共生菌及虫菌互利共生关系相关的国内外主要研究

5.1 松树蜂共生菌的真菌病理学研究

共生菌在松树蜂危害寄主树木时起到了不可或缺的作用,如保证卵的孵化以及为幼虫的生长创造了必要营养条件和活动空间等。共生菌之所以能够起到这些作用是基于其自身作为一种病原真菌,对寄主构成的危害。共生菌随着松树蜂产卵进入寄主体内后,能够造成邻近的寄主细胞迅速失水,导致细胞死亡,形成一定范围的干燥区域,为菌丝的生长创造合适的环境,共生菌生长所需的相对湿度是70%左右,这远低于正常情况下寄主体内的相对湿度水平,所以营造相对干燥的环境是共生菌对寄主细胞形成有效侵染的前提(King, 1966; Kile and Turnbull, 1974)。但关于这一现象背后的机理尚未清楚,有研究学者指出在加速寄主细胞失水干燥的过程中,松树蜂的毒素和共生菌共同参与其中,造成寄主细胞死亡(Kile and Turnbull, 1974)。然而,在其他病原真菌的病理学研究中,研究人员发现松树蜂共生菌的近缘物种——白腐真菌*Heterobasidion annosum*能够通过向寄主细胞释放一种低分子量的有毒物质从而加速寄主细胞的死亡(Bassett *et al.*, 1967; Coutts, 1976; Maijala *et al.*, 2003)。松树蜂共生菌在危害寄主时是否也能产生类似的有毒物质还需进一步的确认。

共生菌是一种白腐真菌,具有降解寄主树木木质纤维素等大分子物质,进而破坏树体内部结构的能力(Campbell, 1932; Buchanan, 2001);正是基于这种能力,共生菌才能为松树蜂幼虫的生长创造了必要营养条件和活动空间。因此,关于共生菌木质纤维素酶类的研究成为了共生菌病理学研究的一个重要方面。Bordeaux(2008)系统地研究了松树蜂共

生菌的胞外漆酶(白腐真菌降解酶系中最重要的一类酶)的酶学性质,发现该真菌在固体和液体培养环境下均能产生漆酶,并且通过蛋白质超滤技术分离纯化到分子量为 75 kDa 的漆酶蛋白;但他同时指出,松树蜂共生菌是一种致病力较弱的病原真菌,虽然具有分泌漆酶的能力,但与其他病原菌相比其漆酶活力较低且容易受到抑制。

5.2 虫菌共生关系的建立对共生菌生殖方式的影响

松树蜂和共生菌形成的这种高度进化的共生关系对二者在生活习性和生态适应性方面产生了深远的影响,尤其对共生菌的繁殖传播方式影响更大(Van der Nest *et al.*, 2012)。共生真菌是一种典型的担子菌,在自然界存在有性和无性两种生殖方式。其有性生殖方式符合担子菌的典型特征,即通过菌丝联合产生双核菌丝,经过营养生长阶段后,由营养菌丝顶端直接产生担孢子,形成子实体(担子果),在性的亲和性方面,属于异宗配合的四极性交配方式(Kües, 2000; Van der Nest *et al.*, 2008)。大多数种类的担子菌在自然条件下很少出现无性繁殖,只有少部分的担子菌能通过芽殖、菌丝断裂产生芽孢子、分节孢子和粉孢子的方式进行无性繁殖,然而松树蜂的共生真菌却是个例外,由于虫菌共生而形成的相互适应使得共生菌选择无性生殖为其主要的传播方式(Thomsen, 1998);共生菌以分节孢子和菌丝片段的形式贮藏在松树蜂雌虫的贮菌囊内,随雌虫的产卵而进入寄主树木内并进行营养性生长,当下一代雌虫羽化后,又重新携带着共生菌攻击新的寄主,往复循环(Coutts and Dolezal, 1969; Madden, 1981)。共生菌以这样一种特殊的无性生殖的方式进行繁殖,并且可以依靠松树蜂较强的扩散能力在较大的区域范围形成广泛的无性繁殖系(Herre *et al.*, 1999; Slippers *et al.*, 2001)。截止目前,在全球范围内关于松树蜂共生菌子实体(担子果)发现的记录非常少,只在松树蜂的原产地欧洲有过罕见的发现,而在其入侵的南半球和北美洲,截至目前都未曾有过共生菌子实体发现的记录(Talbot, 1977; Slippers *et al.*, 2001),这一现象也能充分证明虫和真菌建立的共生使无性生殖成为共生真菌的主要繁殖方式(Slippers *et al.*, 2003)。

5.3 松树蜂共生菌的种群遗传学研究

由于与松树蜂的结合,共生菌主要通过无性生殖的方式繁殖后代,并且可以借助松树蜂的扩散在较大区域甚至是全球范围形成一系列的无性繁殖性

(Herre *et al.*, 1999; Slippers *et al.*, 2001)。无性生殖是一种单向、垂直的传播方式;与有性生殖相比,无性生殖产生的后代其基因型能在相当长的时间内和原始亲本保持一致,相对比较保守(Herre *et al.*, 1999; Slippers *et al.*, 2003)。在 20 世纪,松树蜂随同相关林木产品的国际贸易而被携带到南半球并逐步扩散至大洋洲、南美洲、北美洲以及南非。在各个地区(包括入侵地和原产地)形成了具有不同遗传结构的松树蜂种群,同样也形成了一系列的共生菌无性繁殖系。利用分子生物学的手段分析和比较不同地区的共生菌无性繁殖系的种群遗传特征,可以追溯其亲本源头并判断不同地区松树蜂种群的传播扩散路径(Slippers *et al.*, 2003)。Slippers 等(2002)采用限制性片段长度多态性(RFLP)技术比较了不同地区(包括松树蜂的原产地和入侵地)松树蜂共生菌种群的 *nuc-1GS-rDNA* 片段的序列差异和结构特点,发现来自入侵地不同地区的共生菌种群间亲缘关系非常近,遗传结构比较单一,如南半球的巴西、新西兰、南非和乌拉圭等诸多松树蜂入侵国家,其共生菌种群遗传结构几乎完全一致,拥有共同的亲本源头并形成了一个广泛分布的无性繁殖系;而来自原产地不同地区的共生菌种群遗传结构较为复杂,能明显地区分为几个不同的地理种群。Slippers 等(2001, 2002)据此推测松树蜂在世界范围内的扩散路径很有可能是:该虫首先从原产地的一个或几个相邻地区传播到南半球的一个或几个入侵点,随后又从这些入侵点逐步扩散到南半球的其他地区;而不是先前大多数研究者推测的,入侵到南半球不同地区的松树蜂分别来自原产地的不同地区,在不同的时间点由原产地携带而来。值得关注的是,Slippers 等(2001, 2002)基于共生菌种群遗传分析推测出的松树蜂在南半球各地的入侵先后顺序与事实上南半球各入侵地发现松树蜂的时间先后顺序基本符合。

5.4 松树蜂毒素和共生菌在危害寄主树木时的协同关系

松树蜂之所以能够引起广泛关注并被列为国际重大林业检疫对象,是因为该虫拥有的强大破坏力,并已经对世界范围内很多国家和地区的森林生态系统构成了严重威胁(Slippers *et al.*, 2012)。在松树蜂和共生真菌组成的复合系统内,昆虫、毒素和病原共生真菌三者相互配合,共同危害寄主树木。相比于松树蜂幼虫的取食和钻蛀对寄主树木造成的破坏作用,毒素和共生菌能够严重影响寄主体内的水分

平衡、光合产物运输等重要的生理代谢过程,降解寄主木质纤维素等大分子物质和破坏树体内部结构,逐步削弱寄主的防御能力从而加速树势的衰弱甚至导致树木死亡,为松树蜂幼虫创造了适宜的营养环境和活动空间。在这一过程中,毒素和共生菌相互协作,互为条件,缺一不可(Coutts, 1968, 1969a, 1969b)。

共生菌是一种致病力较弱的病原真菌,野外接种试验显示,植株在只接种共生菌的情况下,树势没有明显降低,健康状况也没有太大变化,表明共生菌自身很难对植株构成威胁(Titze and Mucha, 1965; Coutts, 1969a; Madden, 1971)。Bordeaux(2008)在研究共生菌的漆酶活力时也指出,共生菌自身分泌漆酶的能力较弱,在一定的诱导条件下其漆酶活力能显著提高,考虑到松树蜂和共生菌协同危害寄主树木的事实,他推测毒素有可能对共生菌胞外酶的分泌有促进作用。同样,野外接种毒素的试验也表明,毒素能对接种植株产生一定的危害,植株出现了一系列的典型受害症状,但是毒素自身不能对供试植株构成致命的威胁。只有同时接种共生菌和毒素这两种致病因子,才能导致供试植株在较短时间内迅速衰弱,甚至死亡(Coutts, 1969b; Fong and Crowden, 1973; Bordeaux *et al.*, 2014)。

基于前人关于松树蜂与共生菌协同危害的研究结果,特别是毒素与共生菌胞外分泌酶,包括漆酶之间关系的推测(Coutts, 1968, 1969a, 1969b; Bordeaux, 2008),作者所在本课题组通过实验已经证实松树蜂毒素能够显著地促进共生菌菌株 *Amylostereum areolatum* YQL03 漆酶的分泌,提高漆酶活力(Li *et al.*, 2015)。实验以菌株 *A. areolatum* YQL03 为研究对象,培养第 5 天时,在真菌液体培养基中添加配制好的松树蜂毒素溶液,以未添加毒素溶液的实验组为空白对照;定期取一定量的真菌发酵液,通过分光光度法,以 2,2'-连氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)(ABTS)为底物测定发酵液中的漆酶活力,通过比较处理组(添加毒素溶液)和空白对照组(未添加毒素溶液)的漆酶活力差异,以此判断毒素对菌株 *A. areolatum* YQL03 的漆酶分泌和漆酶活力的影响。值得注意的是,在实验中发现 2 种类型的毒素溶液,即灭过菌的和未灭菌的毒素溶液均能显著地提高菌株 *A. areolatum* YQL03 的漆酶活力,且两种处理并无显著差异,由此,我们推测在毒素中很有可能存在一种或几种耐热因子,这些因子可以抵抗住高温和高压的处理,在促进菌株 *A. areolatum* YQL03 漆酶的分泌,提高漆酶活力的过程

中起着核心作用。

6 小结与展望

松树蜂与其共生菌的形成的互利共生关系与寄主植株健康存在着密切的关系,研究其虫菌共生机制是系统地研究该害虫综合控制策略和技术的关键,不仅能够丰富森林昆虫学、植物病理学的研究内容,因为虫菌共生关系研究这一领域涉及多学科交叉的特点,对其开展深入研究有可能会在生态学及入侵生物学上形成新的理论。鉴于此,本文认为后续关于松树蜂与其共生菌的研究中,有如下 4 个重要的方面需要通过进一步的实验来获得更加详细的信息。

6.1 共生菌在松树蜂不同虫态之间的生活史循环策略

松树蜂雌虫在和共生菌的长期合作关系中进化形成了专门贮藏共生菌菌丝片段和分节孢子的器官—贮菌囊;此外,在雌性幼虫虫体两个侧面也形成了一对专门贮藏共生菌的外部器官,位于第 1 和第 2 腹节之间的褶皱处(Francke-Grosman, 1939; Parkin, 1941)。相关研究已经确定了贮菌囊的存在以及成功地从囊内分离出共生菌,但是关于雌虫幼虫贮藏共生菌的外部器官关注较少,共生菌在幼虫体内是如何存在的,当虫体发生变态时,从幼虫、蛹到成虫阶段,共生菌有着怎样的生活史循环,这些问题至关重要,也对更深入了解虫菌共生关系具有重要意义,因此在以后的研究中,要重点关注于此。

6.2 在我国发现的松树蜂入侵来源及扩散路径问题

鉴于松树蜂于 2013 年在中国东北地区发现,目前亟待研究的重要问题是中国境内发现的松树蜂的来源,即它是循着哪一条或多条路径传入中国的。基于本文上述关于共生菌的传播扩散机制和种群遗传学的描述,应该开展大范围的松树蜂及其近缘物种的调查,弄清楚树蜂在中国其他地区的分布情况,获得不同分布地区的松树蜂标本和共生菌菌株,利用分子标记等分子生物学技术探明中国不同地区松树蜂及其共生菌的种群遗传和扩散规律。

6.3 松树蜂毒素的主要成分分析及生物活性成分的筛选

我们前期已通过实验证实了松树蜂毒素能够显著地促进共生菌菌株 *A. areolatum* YQL03 漆酶的分泌,提高漆酶活力。并推测出在毒素中很有可能存

在 1 种或几种耐热因子, 这些因子可以抵抗住高温和高压的处理, 在促进菌株 *A. areolatum* YQL03 漆酶的分泌, 提高漆酶活力的过程中起着核心作用 (Li *et al.*, 2015)。但这种耐热因子究竟是什么成分, 其对真菌漆酶的诱导遵循着什么样的机制, 这些问题还有待进一步的研究。关于松树蜂毒素的成分分析和有效因子筛选, 前人已经做了一些基础工作。如前文所述, Bordeaux 等 (2014) 在对松树蜂毒素的生物活性成分分析和筛选的研究中, 从松树蜂毒素中筛选出了一种耐高温的小分子肽物质 Noctilisin, 该物质能够明显地导致供试寄主枝条出现萎蔫和早衰的症状, 并且有效促进该寄主与这些症状相关的防御基因表达量的提高。Bordeaux 等 (2014) 的研究成果对目前的研究有很大的启发, 下一步应该对毒素的有效成分进行分析和筛选, 找出毒素中能够有效促进共生菌漆酶分泌的耐热因子, 以证实我们前面的推测。

6.4 松树蜂毒素对共生菌漆酶诱导的分子机制

松树蜂毒素能有效地促进共生菌漆酶的分泌和提高漆酶活力这一生理现象背后的机理是什么, 这些假设的耐热因子通过什么样的途径来作用共生菌, 刺激其漆酶分泌, 这些问题都尚未清楚。至今, 国内外关于松树蜂毒素和共生菌漆酶之间关系的研究还比较少, 可供参考的资料和研究成果甚少。但是在关于其他种类白腐真菌漆酶的研究中, 前人已取得了许多重要的发现。Yang 等 (2013) 在关于白腐真菌 *Trametes velutina* 5930 的漆酶研究中发现一些金属离子 (Cu^{2+} 和 Fe^{2+}) 以及芳香族化合物 (愈创木酚和丁香酸) 能显著提高 *Trametes velutina* 5930 发酵液中的漆酶活力, 并且进一步研究发现这些刺激因子也能显著地提高 *Trametes velutina* 5930 的漆酶基因 *lac5930-1* 的表达量; 此外, 芳香族化合物还可以通过降低发酵液中 *Trametes velutina* 5930 分泌的蛋白酶活性来提高漆酶蛋白的稳定性, 以此提高漆酶活力。这些关于漆酶基因表达和漆酶蛋白稳定性的研究成果对我们揭示松树蜂毒素和共生菌漆酶之间关系有很大的启发意义, 因为松树蜂毒素是一种呈酸性的以粘多糖和蛋白质为主要成分的混合物 (Boros, 1968; Wong and Crowden, 1976), 毒素混合物中的某些生物活性成分, 或者某些耐热因子的存在很有可能通过提高菌株 *A. areolatum* YQL03 漆酶基因表达量或提高漆酶蛋白稳定性的方式来提高其漆酶活力。在后续的研究中我们将围绕菌株 *A. areolatum* YQL03 漆酶基因的克隆以及毒素与漆酶

基因表达之间的关系展开深入研究, 以期揭示出内在的机理。

参考文献 (References)

- Asgari S, Rivers DB, 2011. Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. *Annu. Rev. Entomol.*, 56: 313–335.
- Bassett C, Sherwood RT, Kepler JA, Hamilton PB, 1967. Production and biological activity of fomannosin, a toxic sesquiterpene metabolite of *Fomes annosus*. *Phytopathology*, 57(10): 1046–1052.
- Boissin E, Hurley B, Wingfield MJ, Vasaitis R, Stenlid J, Davis C, De Groot P, Ahumada R, Carnegie A, Goldarazena A, Klasmer P, Wermelinger B, Slippers B, 2012. Retracing the routes of introduction of invasive species: the case of the *Sirex noctilio* woodwasp. *Mol. Ecol.*, 21(23): 5728–5744.
- Bordeaux JM, 2008. Characterization of Growth Conditions for Production of a Laccase-like Phenoloxidase by *Amylostereum areolatum*, a Fungal Pathogen of Pines and Other Conifers. MSc Thesis, University of Georgia, Carolina.
- Bordeaux JM, 2014. Isolation and Structural Characterization of the Active Molecule from *Sirex noctilio* Woodwasp Venom Inducing Primary Physiological Symptoms in Attacked Pine Species. PhD Dissertation, University of Georgia, Carolina.
- Bordeaux JM, Lorenz WW, Johnson D, Badgett MJ, Glushka J, Orlando R, Dean JFD, 2014. Noctilisin, a venom glycopeptide of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae), causes needle wilt and defense gene responses in pines. *J. Econ. Entomol.*, 107(5): 1931–1945.
- Boros CB, 1968. The Relationship between the Woodwasp *Sirex noctilio* F. and the Wood-rot Fungus *Amylostereum* sp. MSc Thesis, University of Adelaide, Adelaide, Australia.
- Buchanan PK, 2001. Aphyllophorales in Australasia. *Aust. Syst. Bot.*, 14(3): 417–437.
- Campbell WG, 1932. The chemistry of the white rots of wood: the effect on wood substance of *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., *Fomes fomentarius* (Linn.) Fr., *Polyporus adustus* (Willd.) Fr., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Fr., *Armillaria mellea* (Vahl.) Fr., *Trametes pini* (Brot.) Fr., and *Polystictus abietinus* (Dicks.) Fr. *Biochem. J.*, 26(6): 1829–1838.
- Cartwright KSG, 1929. Notes on fungus associated with *Sirex cyaneus*. *Ann. Appl. Biol.*, 16(2): 182–187.
- Colinet D, Mathé-Hubert H, Allemand R, Gatti JL, Poirié M, 2013. Variability of venom components in immune suppressive parasitoid wasps: from a phylogenetic to a population approach. *J. Insect Physiol.*, 59(2): 205–212.
- Coutts MP, 1968. Rapid physiological change in *Pinus radiata* following attack by *Sirex noctilio* and its associated fungus, *Amylostereum* sp. *Aust. J. Sci.*, 30(5): 275–277.
- Coutts MP, 1969a. The mechanism of pathogenicity of *Sirex noctilio* on *Pinus radiata*. I. Effects of the symbiotic fungus *Amylostereum* sp. (Thelophoraceae). *Aust. J. Biol. Sci.*, 22(4): 915–924.
- Coutts MP, 1969b. The mechanism of pathogenicity of *Sirex noctilio* on

- Pinus radiata*. II. Effects of *S. noctilio* mucus. *Aust. J. Biol. Sci.*, 22(5): 1153–1162.
- Coutts MP, 1976. The formation of dry zones in the sapwood of conifers. *Eur. J. Forest Pathol.*, 6(6): 372–381.
- Coutts MP, Dolezal JE, 1969. Emplacement of fungal spores by the woodwasp, *Sirex noctilio*, during oviposition. *Forest Sci.*, 15(4): 412–416.
- Danneels EL, Rivers DB, De Graaf DC, 2010. Venom proteins of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*: recent discovery of an untapped pharmacopee. *Toxins*, 2(4): 494–516.
- Fong LK, Crowden RK, 1973. Physiological effects of mucus from the wood wasp, *Sirex noctilio* F., on the foliage of *Pinus radiata* D. Don. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26(2): 365–378.
- Francke-Grosman H, 1939. On the symbiosis of woodwasps (Siricidae) with fungi. *Z. Angew. Entomol.*, 25: 647–679.
- Gaut IPC, 1969. Identity of the fungal symbiont of *Sirex noctilio*. *Aust. J. Biol. Sci.*, 22(4): 905–914.
- Gaut IPC, 1970. Studies of Siricids and Their Fungal Symbionts. PhD Dissertation, University of Adelaide, Adelaide, Australia.
- Gilbertson RL, 1984. Relationships between insects and wood-rotting basidiomycetes. In: Wheeler Q, Blackwell M eds. *Fungus-Insect Relationships*. Columbia University Press, New York. 130–165.
- Gilmour JW, 1965. The life cycle of the fungal symbiont of *Sirex noctilio*. *Z. J. Forest.*, 10(1): 80–89.
- Herre EA, Knowlton N, Mueller UG, Rehner SA, 1999. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends Ecol. Evol.*, 14(2): 49–53.
- Hoebeke ER, Haugen DA, Haack RA, 2005. *Sirex noctilio*: discovery of a palearctic siricid woodwasp in New York. *News. Mich. Entomol. Soc.*, 50(1): 24–25
- Hurley BP, Slippers B, Wingfield MJ, 2007. A comparison of control results for the alien invasive woodwasp, *Sirex noctilio*, in the southern hemisphere. *Agr. Forest Entomol.*, 9(3): 159–171.
- Jamieson JPS, 1957. Some observations on the relation of the internal temperature of *Pinus radiata* to infestation by *Sirex*. *N. Z. J. For.*, 7(4): 32–34.
- Kile GA, Turnbull CRA, 1974. The effect of radiata pine resin and resin components on the growth of the *Sirex* symbiont *Amylostereum areolatum*. *Aust. Forest Res.*, 6(4): 27–34.
- King JM, 1966. Some aspects of the biology of the fungal symbiont of *Sirex noctilio*. *Aust. J. Bot.*, 14(1): 25–30.
- Kües U, 2000. Life history and developmental processes in the basidiomycete *Coprinus cinereus*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64(2): 316–353.
- Li DP, Shi J, Lu M, Ren LL, Zhen CA, You LQ, 2015. Detection and identification of the invasive *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) fungal symbiont, *Amylostereum areolatum* (Russulales: Amylostereaceae), in China and the stimulating effect of insect venom on laccase production by *A. areolatum* YQL03. *J. Econ. Entomol.*, 108(3): 1136–1147.
- Madden JL, 1971. Some treatments which render Monterey pine (*Pinus radiata*) attractive to the wood wasp *Sirex noctilio* F. *Bull. Entomol. Res.*, 60(3): 467–472.
- Madden JL, 1974. Oviposition behaviour of the woodwasp, *Sirex noctilio* F. *Aust. J. Zool.*, 22(3): 341–351.
- Madden JL, 1981. Egg and larval development in the woodwasp, *Sirex noctilio* F. *Aust. J. Zool.*, 29(4): 493–506.
- Madden JL, 1988. *Sirex* in Australasia. In: Berryman AA ed. *Dynamics of Forest Insect Populations: Patterns, Causes, Implications*. Springer, Dordrecht. 407–429.
- Madden JL, Coutts MP, 1979. The role of fungi in the biology and ecology of woodwasps (Hymenoptera: Siricidae). *Insect-Fungus Symbiosis*, 35(7): 165–174.
- Madden JL, Irvine CJ, 1971. The use of lure trees for the detection of *Sirex noctilio* in the field. *Aust. Forestry*, 35(3): 164–166.
- Majjala P, Harrington TC, Raudaskoski M, 2003. A peroxidase gene family and gene trees in *Heterobasidion* and related genera. *Mycologia*, 95(2): 209–221.
- Moreau SJM, 2013. “It stings a bit but it cleans well”: venoms of Hymenoptera and their antimicrobial potential. *J. Insect Physiol.*, 59(2): 186–204.
- Morgan FD, 1968. Bionomics of Siricidae. *Annu. Rev. Entomol.*, 13(1): 239–256.
- Morgan FD, Stewart NC, 1966. The biology and behaviour of the woodwasp *Sirex noctilio* F. of New Zealand. *Trans. Roy. Soc. N. Z. Zool.*, 7(14): 195–204.
- Neumann FG, Minko G, 1981. The sirex wood wasp in Australian radiata pine plantations. *Aust. Forestry*, 44(1): 46–63.
- Nielsen C, Williams DW, Hajek AE, 2009. Putative source of the invasive *Sirex noctilio* fungal symbiont, *Amylostereum areolatum*, in the eastern United States and its association with native siricid woodwasps. *Mycol. Res.*, 113(11): 1242–1253.
- Parkin EA, 1941. Symbiosis in larval Siricidae (Hymenoptera). *Nature*, 147(3): 329.
- Rawlings GB, 1948. Recent observations on the *Sirex noctilio* population in *Pinus radiata* forest in New Zealand. *N. Z. J. For.*, 5(5): 411–421.
- Rawlings GB, Wilson NM, 1949. *Sirex noctilio* as a beneficial and destructive insect to *Pinus radiata* in New Zealand. *N. Z. J. For.*, 6(3): 20–29.
- Schiff NM, Goulet H, Smith DR, Boudreault C, Wilson AD, Scheffler BE, 2012. Siricidae (Hymenoptera: Symphyta: Siricoidea) of the Western Hemisphere. *Can. J. Arthrop. Ident.*, (21): 1–305.
- Slippers B, Coutinho TA, Wingfield BD, Wingfield MJ, 2003. A review of the genus *Amylostereum* and its association with woodwasps. *South Afr. J. Sci.*, 99(1): 70–74.
- Slippers B, de Groot P, Wingfield MJ, 2012. The *Sirex* Woodwasp and Its Fungal Symbiont. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Slippers B, Hurley BP, Wingfield MJ, 2015. *Sirex* woodwasp: a model for evolving management paradigms of invasive forest pests. *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 601–619.
- Slippers B, Wingfield BD, Coutinho TA, Wingfield MJ, 2002. DNA sequence and RFLP data reflect geographical spread and

- relationships of *Amylostereum areolatum* and its insect vectors. *Mol. Ecol.*, 11(9): 1845 – 1854.
- Slippers B, Wingfield MJ, Coutinho TA, Wingfield BD, 2001. Population structure and possible origin of *Amylostereum areolatum* in South Africa. *Plant Pathol.*, 50(2): 206 – 210.
- Spradbery JP, 1973. A comparative study of the phytotoxic effects of siricid woodwasps on conifers. *Ann. Appl. Biol.*, 75(3): 309 – 320.
- Spradbery JP, 1977. The oviposition biology of siricid woodwasps in Europe. *Ecol. Entomol.*, 2(3): 225 – 230.
- Spradbery JP, Kirk AA, 1978. Aspects of the ecology of siricid woodwasps (Hymenoptera: Siricidae) in Europe, North Africa and Turkey with special reference to the biological control of *Sirex noctilio* F. in Australia. *Bull. Entomol. Res.*, 68(3): 341 – 359.
- Spradbery JP, Kirk AA, 1981. Experimental studies on the responses of European siricid woodwasps to host trees. *Ann. Appl. Biol.*, 98(2): 179 – 185
- Tabata M, Abe Y, 1997. *Amylostereum laevigatum* associated with the Japanese horntail, *Urocerus japonicus*. *Mycoscience*, 38(4): 421 – 427.
- Tabata M, Abe Y, 1999. *Amylostereum laevigatum* associated with a horntail, *Urocerus antennatus*. *Mycoscience*, 40(6): 535 – 539.
- Tabata M, Harrington TC, Chen W, Abe Y, 2000. Molecular phylogeny of species in the genera *Amylostereum* and *Echinodontium*. *Mycoscience*, 41(6): 585 – 593.
- Talbot PHB, 1977. The *Sirex-Amylostereum-Pinus* association. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 15(1): 41 – 54.
- Taylor KL, 1981. The *Sirex* woodwasp: ecology and control of an introduced forest insect. In: Kitching RL, Jones RE eds. *The Ecology of Pests – Some Australian Case Histories*. CSIRO, Melbourne, Australia. 231 – 248.
- Thomsen IM, 1998. Characters of fruitbodies, basidiospores and cultures useful for recognizing *Amylostereum areolatum* and *A. chailletii*. *Mycotaxon*, 69(3): 419 – 428.
- Thomsen IM, Harding S, 2011. Fungal symbionts of siricid woodwasps: isolation techniques and identification. *Forest Pathol.*, 41(4): 325 – 333.
- Thomsen IM, Koch J, 1999. Somatic compatibility in *Amylostereum areolatum* and *A. chailletii* as a consequence of symbiosis with siricid woodwasps. *Mycol. Res.*, 103(7): 817 – 823.
- Titze JF, Mucha S, 1965. Testing of vigorous regrowth trees for resistance to *Sirex* by infestation with caged insects. *Aust. Forest Res.*, 1: 14 – 19.
- Van der Nest MA, Slippers B, Stenlid J, Wilken PM, Vasaitis R, Wingfield MJ, Wingfield BD, 2008. Characterization of the systems governing sexual and self-recognition in the white rot homobasidiomycete *Amylostereum areolatum*. *Curr. Genet.*, 53(6): 323 – 336.
- Van der Nest MA, Wingfield BD, Wingfield MJ, Stenlid J, Vasaitis R, Slippers B, 2012. Genetics of *Amylostereum* species associated with Siricidae woodwasps. In: Slippers B, de Groot P, Wingfield MJ eds. *The Sirex Woodwasp and Its Fungal Symbiont*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York. 81 – 94.
- Vasiliauskas R, Stenlid J, 1999. Vegetative compatibility groups of *Amylostereum areolatum* and *A. chailletii* from Sweden and Lithuania. *Mycol. Res.*, 103(7): 824 – 829.
- Vasiliauskas R, Stenlid J, Thomsen IM, 1998. Clonality and genetic variation in *Amylostereum areolatum* and *A. chailletii* from Northern Europe. *New Phytol.*, 139(4): 751 – 758.
- Wong LK, Crowden RK, 1976. Preliminary studies on the mucus secretion of the wood wasp, *Sirex noctilio* F. I. Physicochemical and biochemical properties. *Aust. J. Biol. Sci.*, 29(2): 21 – 32.
- Yang Y, Wei FX, Zhuo R, Fan FF, Liu HH, Zhang C, Ma L, Jiang ML, Zhang XY, 2013. Enhancing the laccase production and laccase gene expression in the white-rot fungus *Trametes velutina* 5930 with great potential for biotechnological applications by different metal ions and aromatic compounds. *PLoS ONE*, 8(11): e79307.

(责任编辑: 袁德成)