

藏东南急尖长苞冷杉心腐病病原及拮抗木霉菌筛选

李杰婷¹, 李祎¹, 刘昱灼¹, 陈刚刚¹, 张一博¹, 姜宁², 王永林³, 李江荣^{1,4*}

1 西藏农牧大学高原生态研究所 西藏林芝高山森林生态系统国家野外科学观测研究站 西藏高原森林生态教育部重点实验室 西藏 林芝 860000

2 中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所 国家林业和草原局森林保护重点实验室, 北京 100091

3 北京林业大学林学院, 北京 100083

4 中国科学院青藏高原研究所 青藏高原地球系统与资源环境国家重点实验室 北京 100101

摘要: 心材腐朽病严重威胁藏东南急尖长苞冷杉林的健康。本研究旨在明确其病原菌种类, 筛选高效拮抗木霉菌株, 并评估其抑菌活性, 以期为该病害的生物防治提供菌种资源和理论依据。采用组织分离法、形态学和分子系统发育分析对病原菌进行鉴定; 通过平板对峙法初筛拮抗木霉菌, 并综合采用平板对扣法和固体稀释法测定木霉菌株的挥发性代谢物与非挥发性代谢物(无菌发酵滤液)的抑菌活性。结果表明, 病原菌为亚红缘拟层孔菌 *Fomitopsis subpinicola*。共分离获得 36 株木霉菌, 其中菌株 M28 对峙抑制效果最佳。挥发性代谢物测定表明, 非洲哈茨木霉 *Trichoderma afroharzianum* M28 的抑菌作用最强, 深绿木霉 *T. atroviride* M49 次之。无菌发酵滤液试验表明, 所有测试浓度下 7 株木霉的滤液均能抑制病原菌生长, 且在 25% 和 33% 浓度下, 深绿木霉 *T. atroviride* M49 的滤液抑菌活性最高。本研究证实了亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola* 是导致急尖长苞冷杉心材褐色腐朽的病原菌, 并成功筛选出具有高效拮抗活性的木霉菌株(M49, M28), 为研发心腐病害的生防菌剂提供了优异的候选菌种。

关键词: 急尖长苞冷杉; 心腐病; 红缘拟层孔菌; 木霉菌; 生防菌

[引用本文]

李杰婷, 李祎, 刘昱灼, 陈刚刚, 张一博, 姜宁, 王永林, 李江荣, 2026. 藏东南急尖长苞冷杉心腐病病原及拮抗木霉菌筛选. 菌物学报, 45(4): 250270

Li JT, Li Y, Liu YZ, Chen GG, Zhang YB, Jiang N, Wang YL, Li JR, 2026. The pathogen causing heart rot of *Abies georgei* var. *smithii* in southeastern Xizang and screening of antagonistic *Trichoderma* strains. *Mycosystema*, 45(4): 250270

资助项目: 西藏自治区林芝市科技计划项目(SYQ2024-14); 西藏自治区科技计划项目(XZ202301JD0001G); 西藏农牧大学林学博士点(一期)(533325001); 西藏高原森林生态教育部重点实验室研究生创新计划课题(JYBSYS-202404)

This work was supported by the Science and Technology Project of Nyingchi City, Xizang Autonomous Region (SYQ2024-14), the Science and Technology Project of the Department of Science and Technology of Xizang Autonomous Region (XZ202301JD0001G), the Xizang Agriculture and Animal Husbandry University Doctoral Program in Forestry (Phase I) (533325001), and the Key Laboratory of Forest Ecology in Xizang Plateau (Xizang Agricultural and Animal Husbandry University), Ministry of Education (JYBSYS-202404).

*Corresponding author. E-mail: ljr06@xza.edu.cn

ORCID: LI Jieting (0009-0001-8984-7261)

Received: 2025-09-10; Accepted: 2025-11-16

The pathogen causing heart rot of *Abies georgei* var. *smithii* in southeastern Xizang and screening of antagonistic *Trichoderma* strains

LI Jieting¹, LI Yi¹, LIU Yuzhuo¹, CHEN Ganggang¹, ZHANG Yibo¹, JIANG Ning², WANG Yonglin³, LI Jiangrong^{1,4*}

1 National Forest Ecosystem Observation & Research Station of Linzhi Xizang, Key Laboratory of Forest Ecology in Xizang Plateau Affiliated with Ministry of Education, Institute of Xizang Plateau Ecology, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, Xizang, China

2 Key Laboratory of Forest Protection of National Forestry and Grassland Administration, Ecology and Nature Conservation Institute, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

3 College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

4 Key Laboratory of Tibetan Plateau Earth System, Environment and Resources, Institute of Tibetan Plateau Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Heart rot disease poses a severe threat to the health of *Abies georgei* var. *smithii* forests in southeastern Xizang. This study aimed at identifying the causal pathogen and screening highly antagonistic *Trichoderma* strains as well as evaluating their antifungal activity to provide potential biocontrol resources for managing this disease. The pathogen was identified through tissue isolation, morphology observation and molecular phylogenetic analysis. Antagonistic *Trichoderma* strains were initially screened using the dual-culture assay, and their inhibitory activity was further evaluated by assessing both volatile metabolites (*via* the two-sealed-base-plates method) and non-volatile metabolites (*via* the solid dilution method with sterile culture filtrates). Results indicated that the dominant pathogen infecting living *A. georgei* var. *smithii* trees was *Fomitopsis subpinicola*. In total, 36 *Trichoderma* strains were isolated, among which strain M28 exhibited the strongest inhibition in the dual-culture assay. Assessment of volatile metabolites revealed that *Trichoderma afroharzianum* M28 had the highest inhibitory effect, and *T. atroviride* M49 was in the next place. Tests with sterile culture filtrates demonstrated that filtrates of all seven selected *Trichoderma* strains inhibited the pathogen's growth at different tested concentrations. The filtrate of *T. atroviride* M49 exhibited the strongest inhibitory activity at concentrations of 25% and 33%. This study confirms *F. subpinicola* as the causal agent of heartwood brown rot in *A. georgei* var. *smithii* in southeastern Xizang, and highly antagonistic *Trichoderma* strains M49 and M28 are excellent candidates of biological control agents.

Keywords: *Abies georgei* var. *smithii*; heart rot; *Fomitopsis pinicola*; *Trichoderma* spp.; biocontrol agent

我国冷杉属 *Abies* 植物资源丰富, 拥有大量特有种, 在森林生态系统中扮演着关键角色(吴征镒 1983; 王瑞红等 2021; Fu *et al.* 2023)。作为藏东南亚高山针叶林关键的建群树种, 急尖长苞冷杉 *Abies georgei* var. *smithii* 对于维持生物多样性及水源涵养至关重要, 但该种群目前已处于易危状态(汪松和解焱 2004)。调查显示, 藏东南地区的急尖长苞冷杉正遭受普遍且严重的心材腐朽病害, 导致树木风折死亡、林相破坏, 严重削弱其生态功能(韦继光和潘秀湖 2005; 邢亚娟等 2007; 张一博等 2024)。心腐病

的发生是林木老龄化与风害、雪压等外部干扰共同作用的结果(陈守常 1959; 罗大庆等 2004)。

在针叶林生态系统中, 褐腐菌因其对针叶树底物的特异性亲和及非酶促芬顿反应高效降解纤维素的独特机制, 常成为优势病原菌, 所致木材强度损失远快于白腐菌(Arantes *et al.* 2012; Jha 2020)。尽管全国尺度上白腐菌物种更丰富(戴玉成 2012; 戴玉成等 2021a), 但侵染针叶树种的褐腐菌在针叶林病害中占据重要地位。已知能侵染冷杉的病原木腐菌种类多样及病害发生特征各异。包括引起褐腐的红缘拟层

孔菌 *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst. 和栗褐暗孔菌 *Phaeolus himalayanus* Y.C. Dai *et al.*, 以及引起白腐的冷杉异担子菌 *Heterobasidion abietinum* Niemalä & Korhonen、哈尔蒂木层孔菌 *Fomitiporia hartigii* (Allesch. & Schnabl) Fiasson & Niemalä 等多种真菌(戴玉成等 2000, 2021b; Dai 2010; Wu *et al.* 2022; Yuan *et al.* 2022, 2023; Liu *et al.* 2023; Cui *et al.* 2025)。其中, 红缘拟层孔菌 *F. pinicola* 寄主范围广, 是造成冷杉褐色心腐的主要病原之一, 近年有研究确诊木层孔菌属及其近似属真菌所致林木茎腐及根腐病高达 13 种(戴玉成等 2004; 胡真臻 2020), 其侵染可快速破坏木材结构, 导致树木力学性能显著下降, 加之外在因素影响, 最终引发树木死亡(卯晓岚 2000; 李姝江和朱天辉 2011; Sundararaj *et al.* 2023)。

对于此类病害, 生物防治是环境友好的重要方向。木霉菌 *Trichoderma* spp. 是应用最广泛的生防真菌之一, 其通过重寄生、竞争、抗生及诱导抗性等多重机制抑制病原菌(Reino *et al.* 2008; Bedine *et al.* 2020; 梁晓洁等 2020)。研究表明, 棘孢木霉 *T. asperellum* 等菌株对多种病原真菌如炭疽菌 *Colletotrichum* spp. 和尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum* 均表现出强拮抗活性(Wang *et al.* 2023a, 2023b)。目前全球已有约 20 个木霉菌种被开发为生防制剂(Abbey *et al.* 2019), 其代谢产物的研究也日益深入(唐若怡等 2023; 危潇等 2024)。然而, 利用木霉菌防治由 *F. suspinicola* 引起的急尖长苞冷杉心腐病, 国内外鲜有系统研究报道。

因此, 本研究旨在明确藏东南地区急尖长苞冷杉心腐病的病原菌, 并针对性筛选高效拮抗木霉菌株, 探究其抑菌活性, 以期为该病害的生物防治提供理论基础与菌种资源。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究于 2023 年 8 月、2024 年 6–8 月, 分别在西藏色季拉山、工布江达县和朗县地区, 以急尖长苞冷杉纯林为研究对象, 寻找并观察其心材腐朽病发生情况, 随机对每株胸径超过 40 cm 的急尖长苞冷杉, 在距离地面约 1.3 m 处使用树轮生长锥进行样芯钻取, 采集心腐样芯, 将其分为外皮(WP)、健康(JK)、交界(JJ)、腐朽(FX)这 4 个部分, 分别用 2 mL 离心管保存并标记, 并采集急尖长苞冷杉部分树皮木质部和子实体, 带回室内保存于 4 °C 冰箱, 用于病原菌分离培养。采集样本记录见表 1。

1.2 冷杉心腐病原菌及拮抗菌的分离纯化

树皮部分采用组织分离法获取冷杉心腐病的病原菌, 首先用无菌水将急尖长苞冷杉树皮表面洗净, 依次用 75%乙醇消毒 30 s, 4%次氯酸钠消毒 30 s, 无菌水漂洗 3 次, 将灭菌组织剪成 0.4 cm × 0.4 cm 的小块, 接种于 PDA 平板(25 °C 培养 3–5 d), 待菌落形成后, 选取边缘菌丝尖端转移至新的 PDA 培养基, 重复纯化 3 次后的菌株用斜面培养基保存并鉴定。

木腐菌子实体在超净工作台中用小刀切下新鲜子实体部分, 采用消毒和未消毒两种方式分别设 3 个重复, 用 75%乙醇进行消毒, 并用无

表 1 样本采集记录

Table 1 Record of the collected samples

序号 Number	地区 Region	样品种类及数量(心腐/健康) Sample types and quantities (heart rot/health)	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude/m
1	色季拉山 Sêrjila Mountain	子实体 Basidiocarps	94°43'13"E	29°38'46"N	3 700
2	工布江达县 Gongbujiangda County	子实体、树皮、土壤 Basidiocarps, bark, soil	94°21'08"E	29°40'10"N	3 817
3	朗县 Nang County	土壤 Soil	93°28'33"E	28°47'49"N	3 865

菌滤纸吸干水分，接入提前制作好的 PDA 培养基上，封好封口膜。

树芯病原菌分离时按照划分的 4 个部位，通过消毒(x)和未消毒(无标记)分别进行病原菌培养分离，每个部位 3 个重复。选择分离率最高且表现出同一形态特征的病原菌进行形态学初步鉴定。

1.3 形态学鉴定

用 5 mm 打孔器取病原菌或木霉菌株菌饼置于含有 PDA 培养基的 9 cm 培养皿中，于 25 °C 培养 7–14 d。期间分别记录菌丝生长速度、质地、颜色变化等。利用插片法进行菌丝和孢子的观察，在 PDA 培养基中间接种病原菌或木霉菌的菌饼，在距离菌饼 0.5 cm 上下左右 4 个方向倾斜 45° 插入灭菌的盖玻片，于 25 °C 培养 2 d 后，取下盖玻片，在显微镜下观察木霉菌株的菌丝、孢子、分生孢子梗等特征。

1.4 分子生物学鉴定

从 PDA 培养基上培养 7 d 的菌落边缘获取新鲜菌丝，采用 Ezup 柱式真菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取 DNA。使用引物 ITS1/ITS4、rRPB2-5f/7cR 和 EF1-728F/986R 分别扩增 ITS、RPB2 和 TEF 基因片段(White *et al.* 1990; Carbone & Kohn 1999; Liu *et al.* 1999)。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后，送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。利用 SeqMan 校对并拼接原始测序序列。将本研究菌株序列与参考序列通过 MAFFT v.7 在线服务器进行多序列比对，再经 BioEdit 手动调整后拼接为多基因联合序列(Katoh *et al.* 2019)。基于 CIPRES Science Gateway 平台，采用最大似然法构建系统发育树(Miller *et al.* 2010)。使用 RAxML-HPC 工具，以 GTR 为替代模型，进行 1 000 次 bootstrap 重复评估分支支持率。系统发育树使用 FigTree v. 1.4.2 和 Adobe Illustrator 2020 编辑。

1.5 致病性检测

用高枝剪采集直径为 1–2 cm 的冷杉枝条，修剪为 20 cm 左右的长度，清水清洗后用 75% 乙醇擦拭表面，并用蜡封住枝条形态学上端，进行表皮烫伤，从保存的各菌株菌落边缘打取

菌饼，将菌饼带菌丝体一侧扣在茎基伤口处，用无菌滤纸和封口膜包住，以接种无菌 PDA 圆片为对照。第 3 天除去滤纸和封口膜。每个菌株接种 3 个重复，每个枝条设置 5 个接种点，竖直放置于加有脱脂棉和无菌水的烧杯中，对枝条形态学下端进行保湿，每隔一周观察枝条发病情况，记录发病症状，对发病部位进行组织分离培养，与病原菌株进行比较是否一致。

1.6 拮抗菌的筛选

心腐病菌与拮抗菌的平板对峙试验，采用两点对峙、三点对峙和五点对峙培养法。分别对部分拮抗木霉菌株进行初步筛选：均使用直径 5 mm 的菌苔在直径 9 cm 的 PDA 平板上操作。两点法：取平板边缘对称两点，分别接种病原菌菌苔与木霉菌苔；三点法：呈直线排列，于平板中央接种病原菌菌苔，其左右两侧 2 cm 处分别接种木霉菌苔；五点法：呈十字形排列，中央接种病原菌菌苔，上下左右 4 个方向距离 2 cm 处分别接种木霉菌苔。置于 28 °C 暗培养，培养 5 d 后测量菌丝体生长速度。木霉菌株对冷杉心腐病原菌的拮抗系数采用 5 级分级标准。将所需的木霉菌与冷杉心腐病原菌进行活化，而后木霉菌分别与病原菌于 9 cm 的平板中进行平板对峙培养，打孔孔径直径为 5 mm，以病原菌在平板单独生长作为对照，于第 2–7 天进行数据统计并计算抑菌率(每组设 5 个重复)。

$$Y = \frac{(DCK - DT)}{DCK} \times 100\%$$

式中：Y 为抑制率，%；DCK 为对照组当天菌落直径，mm；DT 为试验组当天菌落直径，mm。

根据初筛结果采用最适合的对峙法进行复筛，并根据形态和分子鉴定结果，分别挑选出不同种类的具有生防效果的木霉菌，进一步研究木霉发酵滤液和挥发性代谢物对冷杉心腐病原菌的抑菌作用(鲁展彤 2023)。

发酵滤液制备及其对致病菌的抑菌活性测定采用固体稀释法(梁松等 2022)。使用 5 mm 打孔器制取木霉菌菌饼 10 块，接种于 250 mL 锥形瓶(含 100 mL PD 培养基)，置于 28 °C、

180 r/min 摇床中振荡培养 7 d。培养结束后, 纱布过滤离心收集上清液。依次采用 0.45 μm 和 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌, 获得无菌发酵滤液。将滤液与 55 $^{\circ}\text{C}$ PDA 培养基按体积比 50%、33%、25% 混合后倾注平板, 以无菌水替代滤液作为对照。待平板凝固后, 将 5 mm 病原菌菌饼置于平板中央, 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养, 第 3 天开始每日测定发酵滤液对病原菌菌丝生长的抑制率, 每组设 3 个重复。

挥发性代谢物对心腐病原菌的抑菌能力测定采用 9 cm PDA 平板对扣培养法(Muthukumar *et al.* 2011)。上方平板中央接种冷杉心腐病原菌菌饼, 下方平板中央接种木霉菌菌饼。将接种木霉菌的平板于 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d 后, 与新鲜接种病原菌的平板对扣, 密封后置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱培养 7 d。第 3 天开始每日采用十字交叉法测量病原菌落直径, 以未接菌 PDA 平板为对照, 每组设置 5 个重复, 计算抑菌率。

1.7 数据分析

使用 Microsoft Excel 2017 进行数据整理, 采用 Image J 和 Photoshop 2024 处理图片, 使用 Biodeit 分析基因序列, 通过 FigTree v. 1.4.2 和 Adobe Illustrator 2020 对系统发育树可视化, 采用 SPSS 25 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 冷杉心腐病病害特征

根据树芯取样结果, 选取的藏东南急尖长苞冷杉林的心材腐朽病害普遍发生于大胸径的成熟林和过熟林中, 造成冷杉林枯折, 形成大面积林窗, 但未观察到小胸径的幼树发生心腐病害(图 1)。根据病原木腐菌的侵染情况, 亚红缘拟层孔菌 *Fomitopsis subpinicola* B.K. Cui *et al.* 多侵染于急尖长苞冷杉活立木约 1.3–2.5 m 的高度, 造成心材褐色腐朽, 产生于心腐病害前期, 多为新鲜子实体状态。林芝异担子菌 *Heterobasidion linzhiense* Y.C. Dai & Korhonen 作为白色腐朽菌, 造成心材白色腐朽, 采集于急尖长苞冷杉腐朽活立木和倒木上。而高山锈迷孔菌 *Porodaedalea alpicola* S.J. Dai *et al.* 多寄生于冷杉木 3 m 以上

位置, 经发现时多老化, 不排除高山锈迷孔菌侵染位置过高, 不易发现, 出现肉眼误判(Wu *et al.* 2019)。经传统平板培养法分离鉴定出多种病原菌, 包括亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola*、林芝异担子菌 *H. linzhiense*、玫瑰红层孔菌 *Rhodofomes roseus* (Alb. & Schwein.) Kotl. & Pouzar、核果壳囊孢 *Cytospora leucostoma* 等, 野外调查结果显示, 寄生于急尖长苞冷杉林中, 会造成冷杉心材腐朽的病原木腐菌, 包括亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola*、林芝异担子菌 *H. linzhiense*, 玫瑰红层孔菌 *R. roseus*、高山锈迷孔菌 *P. alpicola* 等。结合病害症状表现、子实体采集调查结果得知, 相较白腐菌, 造成冷杉心材褐色腐朽的亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola*, 侵染前期对冷杉林造成的危害性更强, 是引致藏东南急尖长苞冷杉心材褐色腐朽的病原菌。

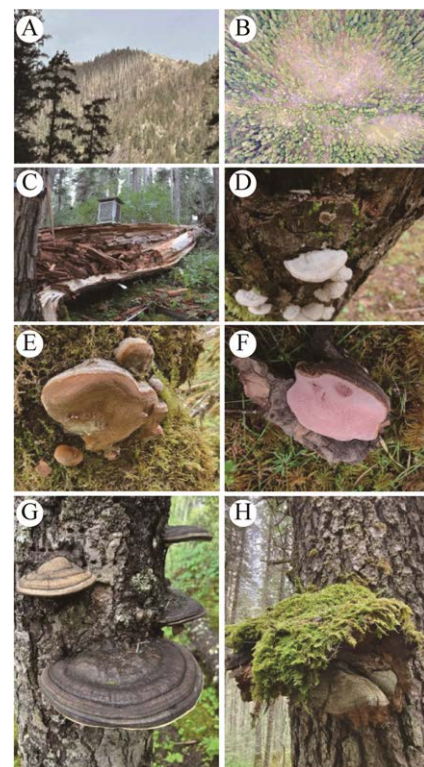


图 1 急尖长苞冷杉心腐病危害 A: 冷杉心腐枯朽林远景; B: 冷杉心腐枯倒林窗; C: 枯倒的心腐冷杉; D–H: 木腐菌子实体

Fig. 1 Heart rot damage in *Abies georgei* var. *smithii*. A: Distant view of fir forest affected by heart rot; B: Forest gap formed by heart-rot-killed fallen fir trees; C: Fallen fir tree killed by heart rot; D–H: Wood-decay fungal fruiting body.

2.2 *Fomitopsis subpinicola* 形态特征

亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola* 担子果多年生, 呈半圆形至马蹄状; 新鲜时硬木栓质, 干后木质化且质轻。菌盖表面红褐至黑褐色; 边缘钝圆, 初期乳白色, 成熟后转为红褐色(红缘特征显著, 图 2)。子实层无囊状体, 拟担子为主。生殖菌丝具锁状联合, IKI-, CB-, KOH 中菌丝组织变深褐色。担孢子大小为(5.1-)5.3-6.5(-7) × (3-)3.3-4(-4.5) μm, L=5.76 μm, W=3.67 μm, Q=1.54-1.60 (n=60/2)。PDA 培养基上菌落为白色, 边缘平滑, 整体为白色绒毛状, 产生低但密集的气生菌丝, 无特殊气味; 生长速度较慢, 25 °C 培养约 9 d 长满平板, 培养基的颜色基本不发生变化, 也不形成子实体。

2.3 *Fomitopsis subpinicola* 分子系统学鉴定

分子鉴定进一步证实了形态学判断。本研究分离菌株序列提交至国家微生物科学数据中心 NMDC (<http://nmcc.cn/>), *F. subpinicola* 系统发育研究所用物种名、标本和登录号见附表 1 (国家微生物科学数据中心 NMDCX0002177)。

基于 ITS、RPB2 和 TEF 序列, bootstrap 为 1 000, 采用最大似然法构建的系统发育树显示, 本研究中的 FP1WA 和 FP0001 与已知的模式标本 *F. subpinicola* Cui 9836 聚为一支(图 3), 支持

率为 94%, 分布于欧洲和北美常见的狭义种 *F. pinicola* LT323 则位于另一支上, 并与近缘种 *F. ochracea*、*F. mounceae* 等明显分开, 从而确证其分类地位。

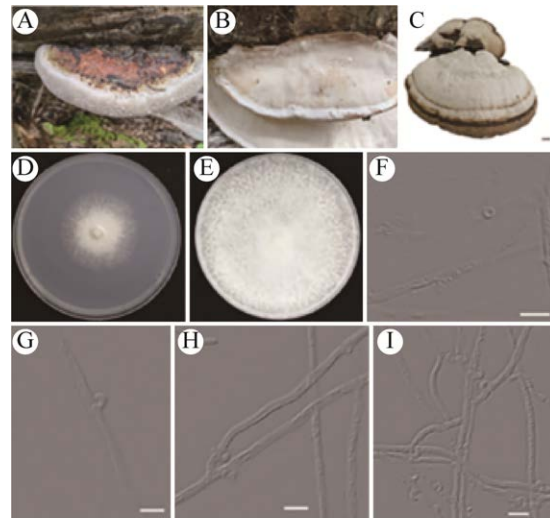


图 2 亚红缘拟层孔菌 *Fomitopsis subpinicola* 形态特征 A: 新鲜担子果正面; B: 子实层体; C: 烘干担子果正面; D: 培养 3 d; E: 培养 9 d; F: 分生孢子; G-I: 菌丝; 标尺: C=1 cm; F-I=10 μm

Fig. 2 Morphological characteristics of *Fomitopsis subpinicola*. A: Front view of a fresh basidioma; B: Hymenophore; C: Front view of a dried basidioma; D: Culture in 3 days; E: Culture in 9 days; F: Conidia; G-I: Hyphae. Scale bars: C=1 cm; F-I= 10 μm.

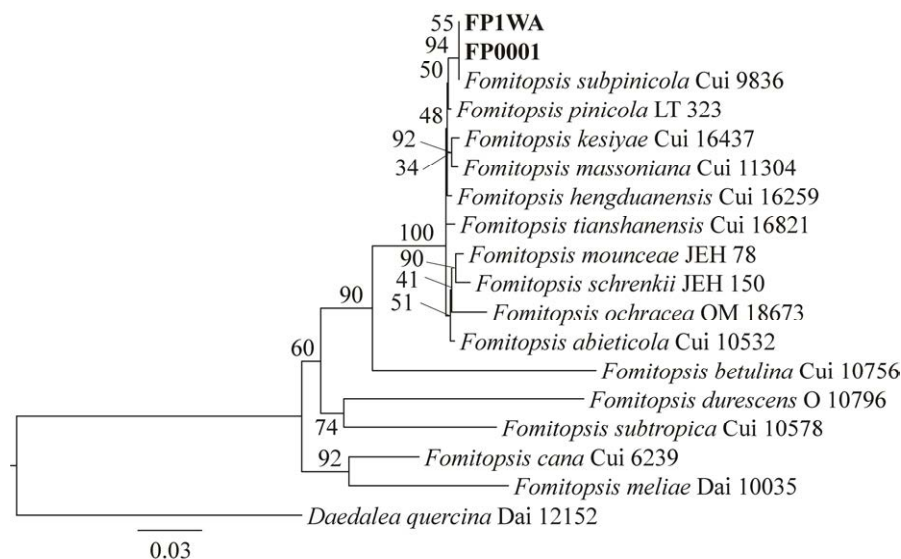


图 3 基于 ITS+TEF+RPB2 序列构建的拟层孔菌属系统发育树 本研究菌株已加粗显示; 最大似然法支持率≥50%
Fig. 3 Phylogenetic tree of *Fomitopsis* based on the combined dataset ITS+TEF+RPB2. Strains studied are highlighted in bold. Bootstrap support values for maximum likelihood (≥50%) are shown at the nodes.

2.4 致病性检测

对从急尖长苞冷杉上的疑似病原物上分离到的多个真菌,特别是疑似病原木腐菌如亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola*、林芝异担子菌 *H. linzhiense*、玫瑰红层孔菌 *R. roseus* 都进行了致病性测定。结果显示,在相同条件下接种 30 d,唯有接种 *F. subpinicola* 的植株出现了木质部轻微褐变与中度软化(图 4B),有 4/9 的植株出现了轻微的心腐症状,在接种 *F. subpinicola* 菌块的枝条里侧较为明显,但其病害未在所有重复中稳定出现,发病比例为 44.9%。相比之下,接种 *H. linzhiense* (图 4F)和 *R. roseus* (图 4G)的植株在观察期内未表现任何可见病症,其症状与空白对照无异。因此, *F. subpinicola* 存在潜在致病性,是本研究中需要优先防控的病原靶标。

2.5 木霉菌的形态学特征

木霉菌孢子产量大小见表 2, 微观形态特征见图 5, 木霉菌落颜色、质地、生长速度等形态特征见附表 2 (国家微生物科学数据中心 NMDCX0002177)。

2.6 木霉菌分子系统学鉴定

分离得到的 49 株疑似木霉菌进行 DNA 提取,送公司测序的结果处理后在 NCBI 网站进行同源性比对,鉴定出有 36 株为木霉,共有 5 种不同种类菌株,选择其中 7 株木霉菌进行生防菌抑菌效果探究(表 3)。本研究分离菌株序列提交至国家微生物科学数据中心 NMDC (<http://nmdc.cn/>),木霉属系统发育研究所用物种名、标本和登录号见附表 3 (国家微生物科学数据中心 NMDCX0002177)。基于 RPB2 和 TEF 序列,采用最大似然法构建

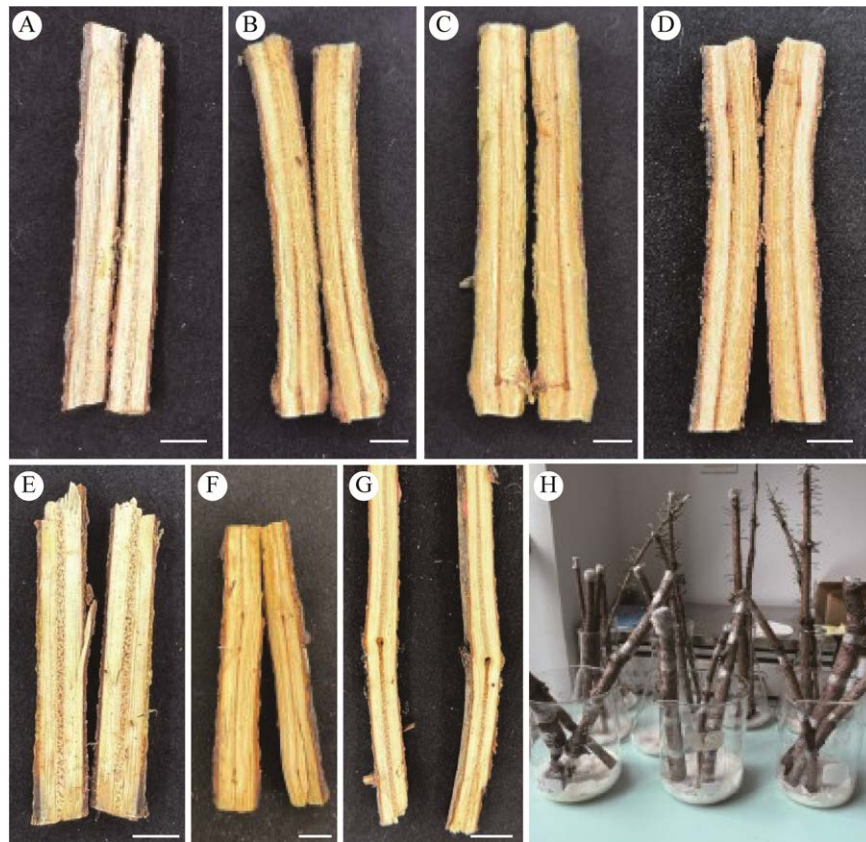


图 4 心腐病病原菌回接枝条症状 A, E: 对照; B-D: 接种 *Fomitopsis subpinicola* 枝条; F: 接种 *Heterobasidion linzhiense* 枝条; G: 接种 *Rhodofomes roseus* 枝条; H: 致病性回接; 标尺=1 cm

Fig. 4 Symptoms on branches following re-inoculation with the heart rot pathogen. A, E: Control treatment; B-D: Inoculated with *Fomitopsis subpinicola*; F: Inoculated with *Heterobasidion linzhiense*; G: Inoculated with *Rhodofomes roseus*; H: Pathogenicity re-isolation. Scale bars=1 cm.

表 2 木霉菌孢子产量及特征

Table 2 Sporulation and characteristics of *Trichoderma* species

编号 No.	产孢量 Sporulation	孢子形态 Conidial morphology	孢子大小 Spore size/ μm , $n=30$	平均长 Length/ μm	平均宽 Width/ μm	长宽比 Q Ratio/L/W
M6	+++	椭圆形 Ellipsoidal	3.0–4.0 × 2.0–3.0	3.50	2.55	1.37
M25	+++	椭圆形 Ellipsoidal	3.5–5.5(–6.0) × (2.0–)2.5–4.0(–4.5)	4.29	3.32	1.29
M43	+++	近球形 Subglobose	3.5–5.5(–6.5) × (3.0–)3.5–5.5(–6.5)	4.78	4.23	1.13
M28	++++	近球形 Subglobose	(2.5–)3.0–3.5(–4.0) × 2.5–3.0(–3.5)	3.21	2.80	1.15
M41	+	宽椭圆形 Broadly ellipsoidal	2.5–4.0 × 2.5–3.0	3.06	2.64	1.16
M48	+++	宽椭圆形 Broadly ellipsoidal	3.0–5.5(–6.0) × (2.0–)2.5–4.5	4.12	3.52	1.17
M49	+++	近球形 Subglobose	3.5–4.5(–5.0) × (3.0–)3.5–4.5	4.22	3.83	1.10

注: +表示孢子产量稀疏; +++表示产孢量丰富; ++++表示产孢量极大

Note: +, sparse sporulation; +++, abundant sporulation; ++++, profuse sporulation.

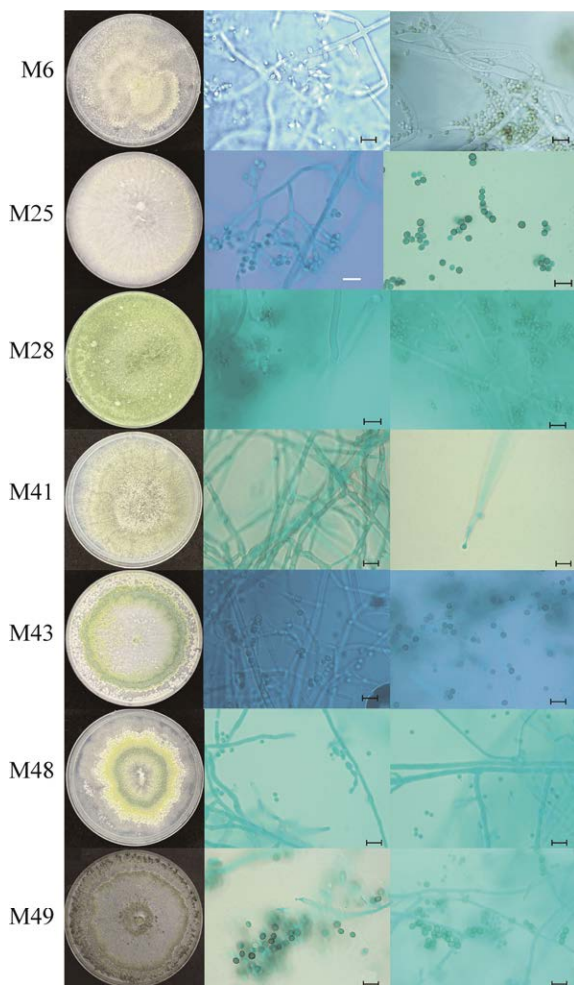


图 5 木霉菌菌落及微观形态特征 M6: 小孢木霉; M25, M43: 近绿色木霉; M28: 非洲哈茨木霉; M41: 多孢木霉; M48、M49: 深绿木霉; 标尺=10 μm

Fig. 5 Colony and microscopic morphological characteristics of *Trichoderma* species. M6: *T. minutisporum*; M25, M43: *T. paraviride*; M28: *T. afroharzianum*; M41: *T. polysporum*; M48, M49: *T. atroviride*. Scale bars=10 μm .

的系统发育树显示(图 6), 发现菌株 M28 与 *T. afroharzianum* CBS 124620 聚为一支, 支持率为 100%; M6 与 *T. minutisporum* G.J.S. 90-82 聚为一支, 支持率为 100%; M41 与 *T. polysporum* CPK 3131 聚为一支, 支持率为 100%; M48、M49 与 *T. atroviride* CBS142.95 聚为一支, 支持率为 100%; M25、M43 与 *T. paraviride* YMF 1.04628 聚为一支, 支持率为 100%。结合形态学鉴定结果, 将菌株 M28 鉴定为非洲哈茨木霉 *T. afroharzianum*; 菌株 M6 鉴定为小孢木霉 *T. minutisporum*; 菌株 M41 鉴定为多孢木霉 *T. polysporum*; 菌株 M48、M49 鉴定为深绿木霉 *T. atroviride*; 菌株 M25、M43 鉴定为近绿色木霉 *T. paraviride*。

2.7 木霉菌和心腐病原菌的平板对峙效果

从标本中分离到 49 株疑似生防木霉菌株, 以急尖长苞冷杉心腐病原菌亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola* 为靶标, 利用平板对峙法初步测定每株木霉菌的拮抗效果(图 7), 结果发现, 不同种类的木霉菌株对 *F. subpinicola* 均具有不同程度的拮抗效果, 其中 M28、M48 抑制效果最为显著(表 3)。平板对峙试验显示, M28 和 M48 菌丝最终占据平板面积超过 2/3, 并覆盖整个病原菌菌落, 导致其消解, 这两种木霉菌生长和繁殖速度快, 可以迅速抢占空间并利用营养成分, 可能对心腐病原菌进行了生长空间挤占和营养争夺, 以此限制了病原菌的生长。

2.8 木霉菌挥发性代谢产物对心腐病原菌的抑菌能力

将 *F. subpinicola* 分别与不同种类木霉菌挥

发性代谢产物对扣培养 7 d, 因挥发性代谢物抑菌作用随时间变化不明显, 所以仅呈现木霉菌第 7 天的抑菌能力比较(图 8)。实验结果表明, 不同种类的木霉菌挥发性代谢物对心腐病原菌的抑菌效果存在显著差异。处理第 7 天时, M28 和 M49 菌株的挥发性代谢物表现出最强的抑菌活性, 抑菌率分别为 60.2%和 57.2%, 显著高于其他菌株(图 8)。M6、M25、M41、M43 和 M48 菌株的抑菌率介于 33.3%–43.4%之间, 其抑菌效果虽显著优于对照组, 但与高效菌株存在明显差异。

通过平板对扣法效果图可以看出(图 9), 仅接种病原菌的 CK 对照组正常生长, M28 和 M49 菌株的挥发性代谢物表现出最强的抑菌效果, 接种于下方 PDA 培养基上的木霉已长满板(图 9C), 而接种于上方培养基的病原菌 *F. subpinicola* 几乎不生长; M6 挥发性物质抑菌效果微弱, 其上方的 *F. subpinicola* 菌落大小介于 CK 和 M28 等抑菌效果较强菌株之间。不同木霉菌挥发性代谢物的抑菌效果为 M28>M49>M48>M25>M43>M41>M6>CK, 并呈生长蔓延至上方培养基的趋势, 对病原菌 *F. subpinicola* 的生长空间进行挤占掠夺(图 9D)。

2.9 木霉菌发酵滤液对心腐病原菌的抑菌能力

将 *F. subpinicola* 分别接种在含有不同浓度木霉菌发酵滤液的 PDA 平板中, 培养 7 d, 在第 7 天, 所有木霉菌都长满平板, 难以观察测

量, 因此以 3–6 d 数据来呈现, 不同浓度 (25%、33%、50%)木霉菌发酵滤液处理 3–6 d 后的抑菌率动态变化见图 10, 与对照相比, 不同浓度的 7 株木霉菌的无菌发酵滤液对 *F. subpinicola* 均具有一定的抑制作用, 但抑菌效果有差异。

当发酵滤液浓度为 25%时(图 10A), 每株木霉菌发酵滤液抑菌率显著高于空白对照, 对病原菌均具有一定的抑制作用, 除 M41 呈现随处理时间延长抑菌率逐渐降低的趋势外, 其余木霉发酵滤液抑菌率均随处理时间增加而稳定增长, 第 3–6 天增幅约 20%, 在第 6 天表现出最强的抑菌效果, 可能是在第 6 天木霉发酵滤液混合 PDA 培养基上已长出菌丝和有孢子释放, 在一定程度上增强了对病原菌的抑制效果。M49、M6 和 M43 的发酵滤液抑菌效果显著强于其他木霉菌, 抑菌效果从大到小依次为: M49>M43>M6>M25>M28>M48>M41, 25% 浓度的 M49 发酵滤液对 *F. subpinicola* 的抑菌效果最强, 在第 6 天的抑菌率达到了 88.76%, 表明低浓度下 M49 发酵滤液的抑菌能力优于空白对照和其他菌株。

当发酵滤液浓度为 33%时(图 10B), 每株木霉菌发酵滤液抑菌率显著高于空白对照, 对病原菌均具有一定的抑制作用, M41 呈现随处理时间延长抑菌率逐渐降低的趋势, M6 发酵滤液在第 5 天达到最高抑菌率, 其余 M49、M43、

表 3 木霉菌来源及特征

Table 3 Source and characteristics of the *Trichoderma* isolates

编号 No.	菌株种类 Species	拮抗等级 Antagonism level	分离部位 Source	分离率 Isolation frequency/%
M6	小孢木霉 <i>T. minutisporum</i>	II	子实体 Basidiocarps	2.8
M28	非洲哈茨木霉 <i>T. afroharzianum</i>	I	树皮 Bark	2.8
M41	多孢木霉 <i>T. polysporum</i>	III	子实体 Basidiocarps	2.8
M25, M43	近绿色木霉 <i>T. paraviride</i>	II	树芯 Heartwood of trees	38.9
M48	深绿木霉 <i>T. atroviride</i>	I	土壤 Soil	5.6
M49	深绿木霉 <i>T. atroviride</i>	I	树芯 Heartwood of trees	2.8

注: I 级: 木霉菌丝体占据培养皿 100%; II 级: 木霉菌丝占据平皿>2/3; III 级: 木霉菌丝据平皿<2/3 且>1/3; IV 级: 木霉菌丝占据平皿 1/3; V 级: 病原菌占据平皿 100%

Note: Grading scale for antagonistic activity: Grade I: *Trichoderma* mycelium occupies 100% of the Petri dish; Grade II: *Trichoderma* mycelium covers >2/3 of the plate; Grade III: *Trichoderma* mycelium occupies <2/3 but >1/3 of the plate; Grade IV: *Trichoderma* mycelium covers 1/3 of the plate; Grade V: Pathogen mycelium occupies 100% of the plate.

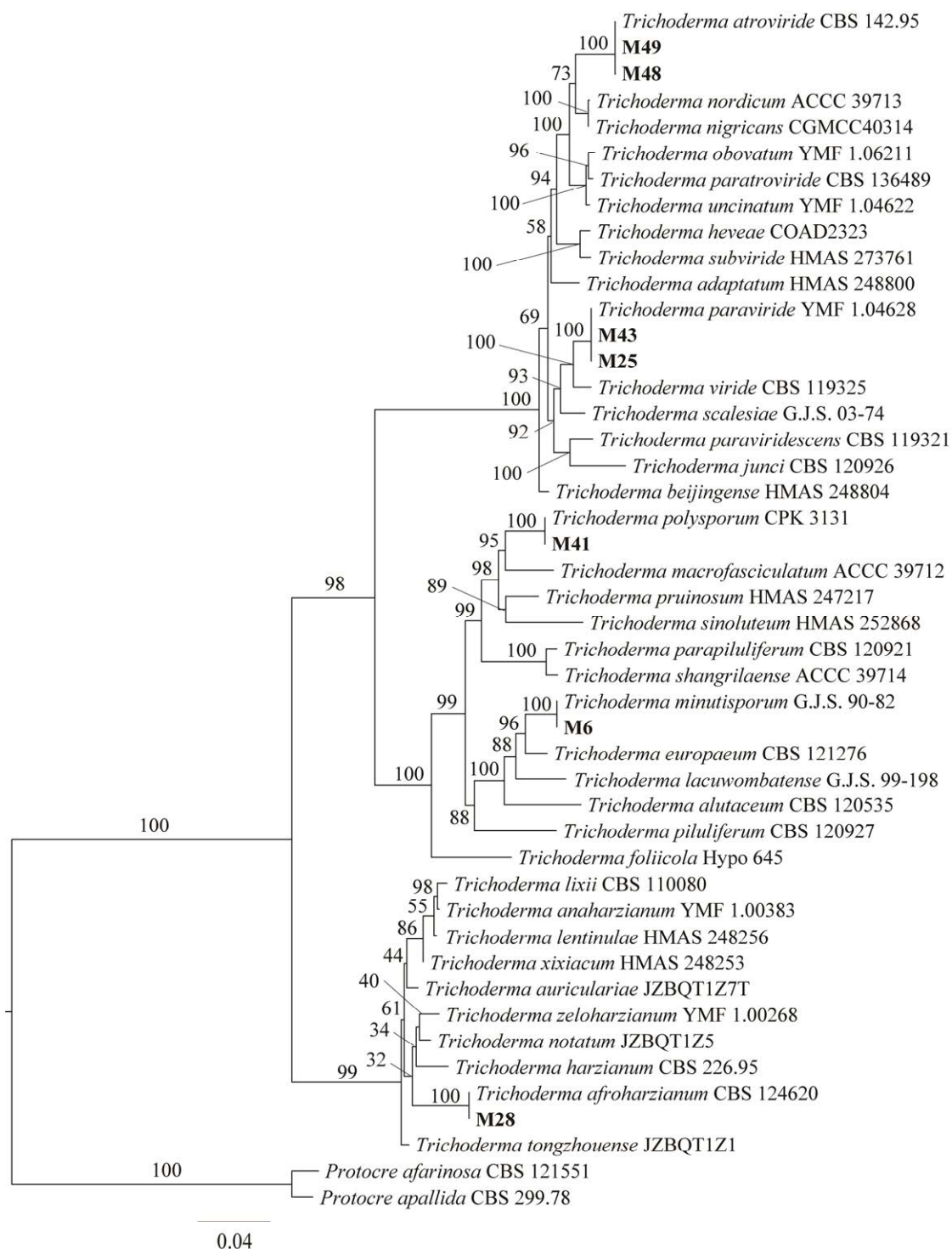


图 6 基于 TEF+RPB2 序列构建的木霉属系统发育树 本研究菌株已加粗显示；最大似然法支持率 $\geq 50\%$
 Fig. 6 Phylogenetic tree of *Trichoderma* species based on the combined dataset TEF+RPB2. Strains studied are highlighted in bold. Bootstrap support values for maximum likelihood ($\geq 50\%$) are shown at the nodes.

M25、M28、M48 发酵滤液抑菌率随处理时间增加而稳定增长，抑菌率峰值出现在第 6 天，抑菌效果显著强于空白对照和其他木霉菌，抑菌

效果从大到小依次为：M43>M49>M25>M28>M48>M6>M41，在 33%浓度下，M43 发酵滤液的抑菌活性表现最优。

当发酵滤液浓度为 50% 时(图 10C), 除 M41 自第 3 天后抑菌率逐渐降低外, 其余木霉菌发酵滤液均呈现出显著的抑菌活性, 抑菌率峰值均出现在第 6 天, 抑菌率均接近 90%, 抑菌效果从高到低依次为: M48>M43>M25>M28>M49>M6>M41, 由此可知在低中浓度下都呈现出较

高抑菌活性的 M49 发酵滤液在高浓度下抑菌活性减弱。

处理第 3 天, M25、M41、M43 和 M49 的发酵滤液, 在 33% 浓度时抑菌活性最强, 25% 浓度时抑菌率最低(图 11A)。M28、M43、M48 的发酵滤液, 均呈现出发酵滤液 50%>33%>25% 的

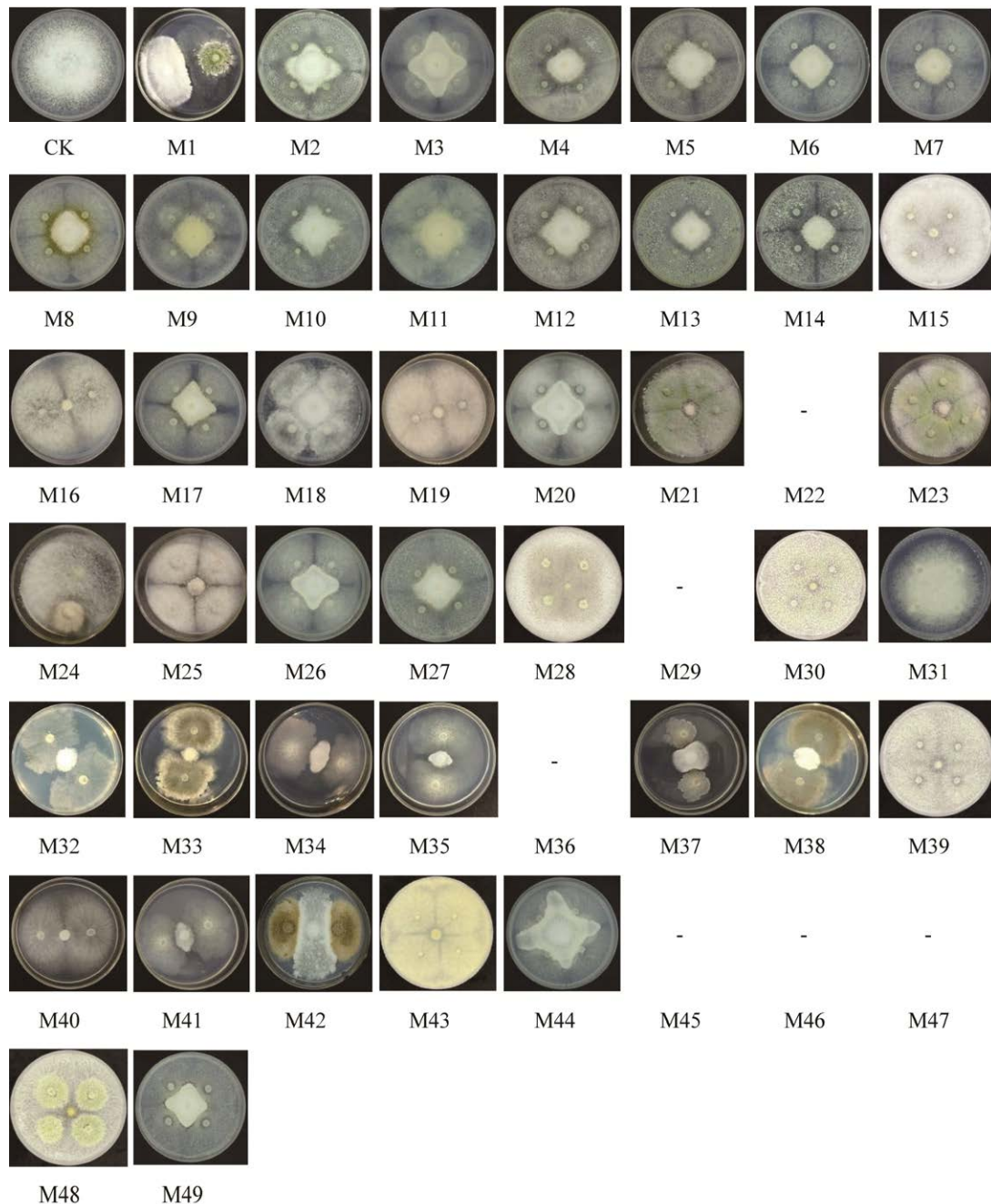


图 7 疑似木霉菌与急尖长苞冷杉心腐病病原菌对峙效果图 “-” 表示无抑菌效果

Fig. 7 Antagonistic effects of putative *Trichoderma* strains against the heart rot pathogen of *Abies georgei* var. *smithii* in dual-culture assay. A dash “-” indicates no inhibitory effect.

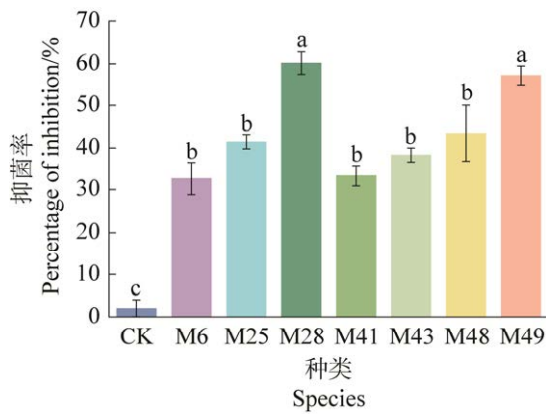


图 8 木霉菌挥发性代谢物抑菌率 不同小写字母表示差异显著 ($P \leq 0.05$); 下同

Fig. 8 Inhibition rates of volatile metabolites from *Trichoderma* species. Different lowercase letters indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$). The same below.

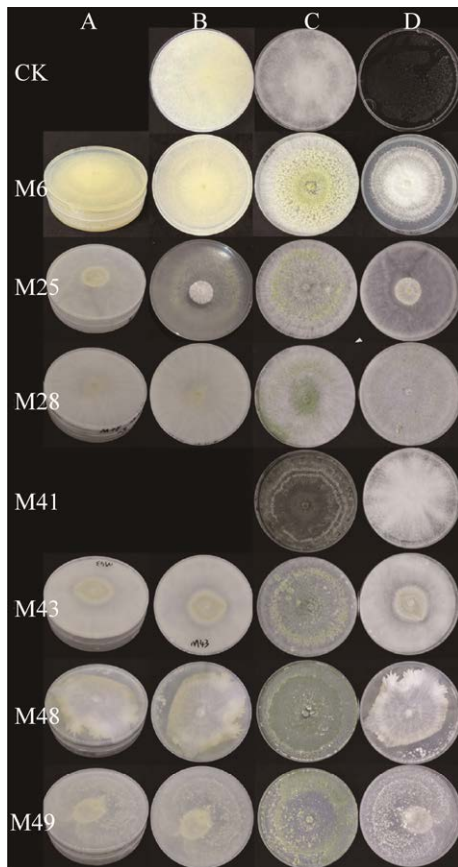


图 9 木霉菌挥发性代谢物对 *Fomitopsis subpinicola* 的抑菌效果 A: 平板对扣法; B: 平板对扣正面; C: 木霉菌平板对扣展开图; D: *F. subpinicola* 平板对扣展开图

Fig. 9 Inhibitory effects of volatile metabolites from *Trichoderma* species against the pathogen. A: Double-plate assay; B: Frontal view of the double-plate assay; C: Expanded view of the separated plates of *Trichoderma* species; D: Expanded view of the separated plates of *F. subpinicola*.

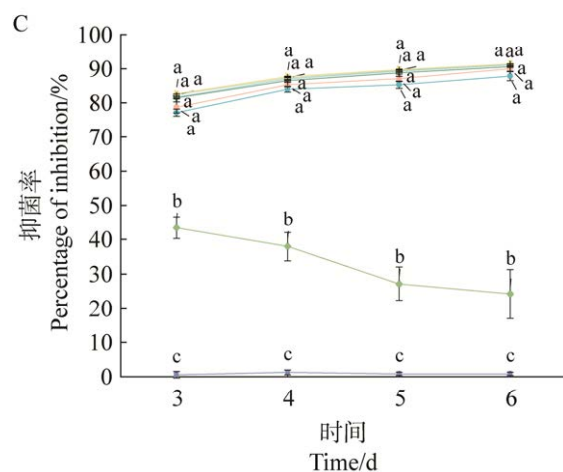
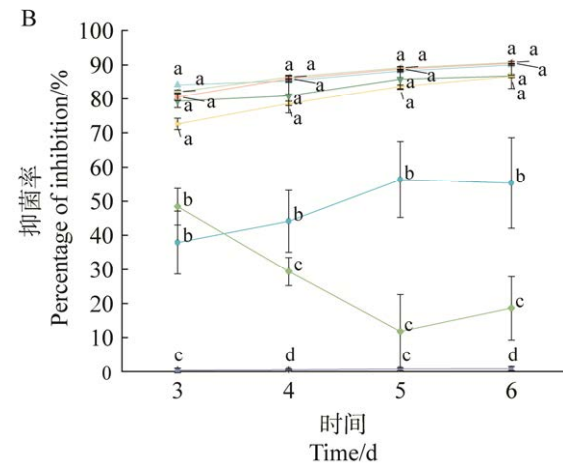
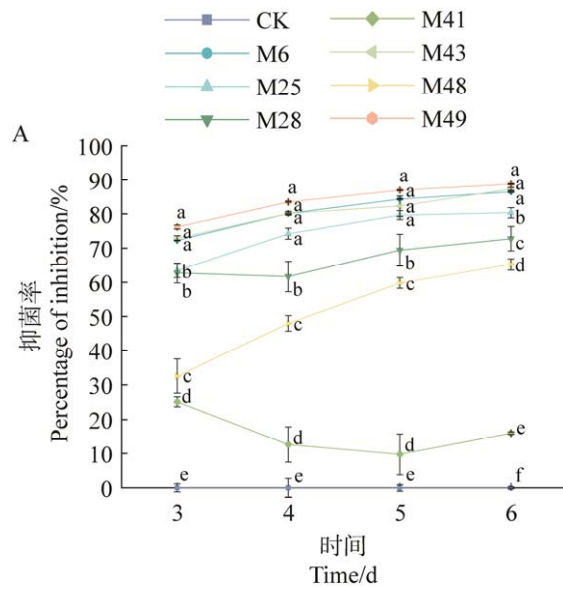


图 10 不同浓度的木霉菌发酵滤液对病原菌的抑制率 A: 表示发酵滤液浓度为 25%; B: 浓度为 33%; C: 浓度为 50% Fig. 10 Inhibitory effects of *Trichoderma* spp. culture filtrates at different concentrations against the pathogen. A: 25% culture filtrate; B: 33% culture filtrate; C: 50% culture filtrate.

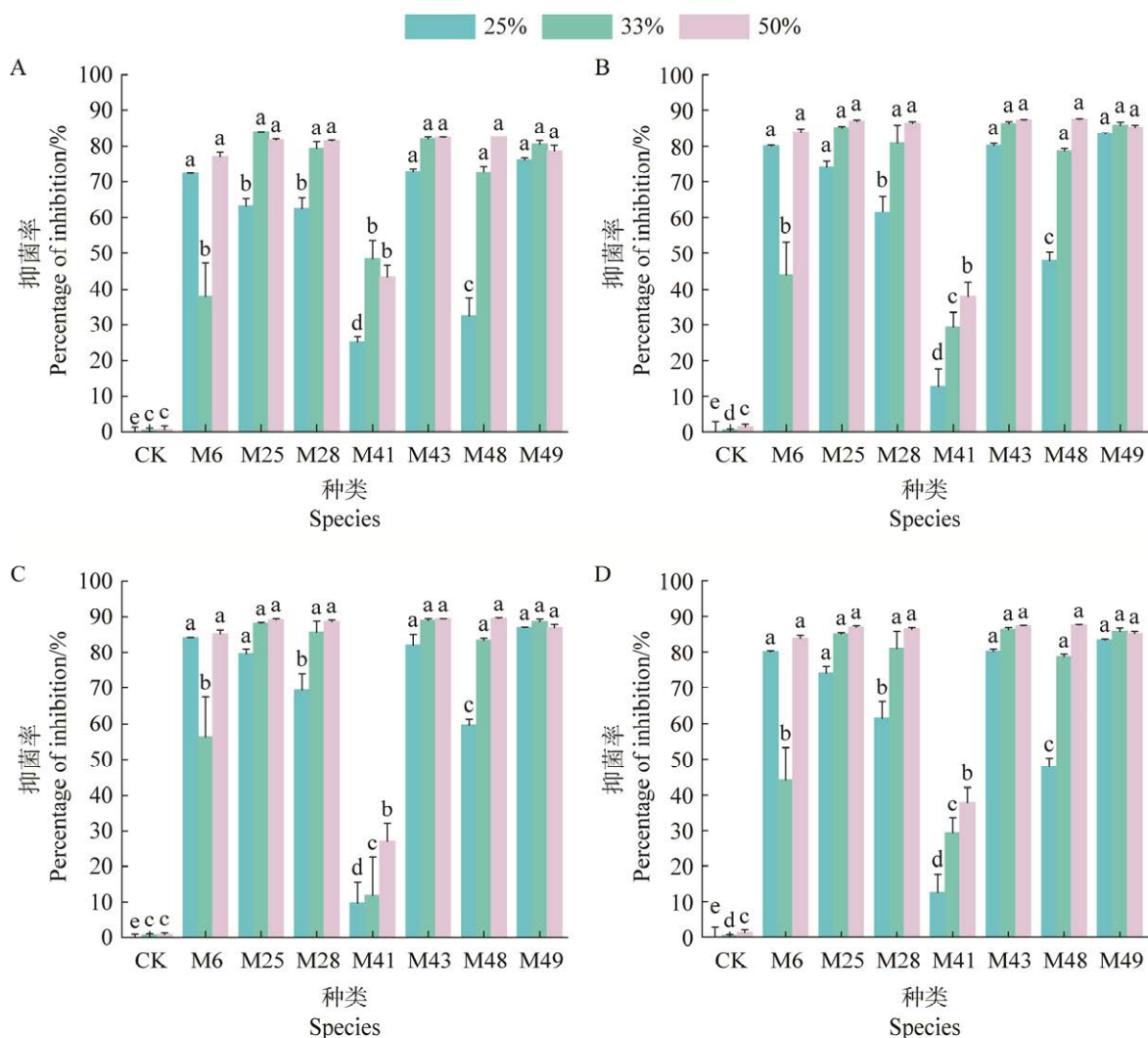


图 11 不同对峙时间的木霉菌发酵滤液对病原菌的抑制率 A: 对峙 3 d; B: 对峙 4 d; C: 对峙 5 d; D: 对峙 6 d
Fig. 11 Inhibitory effects of *Trichoderma* spp. culture filtrates at different dual-culture durations. A: Confrontation in 3 d; B: Confrontation in 4 d; C: Confrontation in 5 d; D: Confrontation in 6 d.

抑菌活性。处理第 4–5 天时，除 M6 和 M49 外，其余木霉发酵滤液均在 50% 浓度时呈现出最高抑菌活性，在 25% 时抑菌效果最低(图 11B, 11C)。处理第 6 天时，33% 浓度的 M49 和 50% 浓度的 M28 发酵滤液抑菌率分别达到 90.46% 和 90.60% 的峰值，优于空白和其他处理组(图 9D)。

随处理时间的变化，各个浓度的 M28 和 M49 发酵滤液始终位于抑菌率最高区域。处理 3–6 d 时(图 11)，M6 抑菌活性都呈现在 50% 浓度下最高，25% 浓度下次之，33% 浓度下最低。其余木霉发酵滤液在 33% 和 50% 的抑菌率都显著高于空白对照和低浓度处理组。M43 发酵滤

液的抑菌活性在 33% 和 50% 浓度下趋近，表示中高浓度对 M43 的抑菌效果影响不大，其受低浓度影响更甚。并且，随着处理时间的增加，25% 浓度组(图 10)的木霉发酵滤液抑菌率呈稳定上升趋势，但在 33% 浓度和 50% 浓度时木霉发酵滤液抑菌能力出现分化，M41 抑菌率自第 3 天后呈下降趋势。中效菌株 M43、M48 在 33% 浓度下表现出持续的抑菌增益(第 6 天达 70%–75%)，但在 50% 浓度时活性衰减 10%–12%，表明长时间的高浓度可能诱导 M43、M48 代谢毒性或自抑制效应。其中 M41 在所有浓度下均处于最低活性层级，抑菌能力较其他木霉菌较弱。

3 讨论

3.1 急尖长苞冷杉心腐病害及其优势病原菌

本研究通过形态学与分子鉴定,结合心腐病调查结果和病害症状表现,明确亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola* 是导致藏东南急尖长苞冷杉心材褐色腐朽的病原菌。该发现与褐腐菌对高海拔针叶树底物具有普遍亲和性的规律相符(Simpson *et al.* 2024),也解释了其在藏东南地区急尖长苞冷杉成熟林中广泛分布的原因。近期对 *F. pinicola* 复合群的分类学修订指出,病原菌 *F. subpinicola* 是主要分布于东亚地区的物种(Liu *et al.* 2021; Xu *et al.* 2025),这与本研究的藏东南地区地理位置高度吻合。因此,从病原菌区系地理学的角度来看,我们的鉴定结果是合理且可靠的。

与白腐菌相比, *F. subpinicola* 作为褐腐菌能更快速地降解木材中的纤维素,导致其在侵染初期即可造成木材强度的严重损失(Pandey & Pitman 2003; Arantes & Goodell 2014)。侵染急尖长苞冷杉,造成其心材腐朽病害的病原菌,包含褐色腐朽真菌和白色腐朽真菌,褐腐菌如亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola*,白腐菌如林芝异担子菌 *H. linzhiense*,因其心腐病原木腐菌发生规律性不强,白腐菌和褐腐菌可能单独发生,也可能混合发生(Kaya *et al.* 2022; 周林江等 2023)。*F. subpinicola* 通过侵染衰弱树木,优先分解纤维素和半纤维素引发心材褐腐,破坏木材结构导致力学性能下降,造成林木空心易风折最终致树木死亡,形成冷杉心腐枯倒林窗,危害性更大。这一特性使其对林木结构的破坏性更强,凸显了将其作为前期心腐病害生防靶标的必要性,可有效避免心腐病害的不良影响悄然蔓延。

本研究虽然检测到 *F. subpinicola* 与心腐病的极强相关性,但在科赫氏法则验证病原菌时,幼苗枝条致病性回接试验中的致病症状不甚典型。这可能源于心腐病害作为一种隐蔽性病害,病原菌的致病过程极为缓慢,而实验室条件下的短期接种难以达到野外侵染效果。加

之 *F. subpinicola* 具有弱寄生性、分布传播范围较广的特征,主要通过根系或树干基部伤口侵染弱势立木,其侵染过程依赖于老化木质部暴露形成的持续湿润微环境(袁海生等 2019; Arač *et al.* 2021)。对于老龄树木,其边材变薄,树皮开裂破损,一些病虫害导致的伤口增多,形成层中的“反应区”防御能力降低,病原真菌侵染树芯就造成了急尖长苞冷杉心材腐朽(张一博等 2024)。但用于接种的急尖长苞冷杉幼苗枝条可能具有较强的寄主抗病性,不易表现出病害症状。或该心腐病在自然条件下可能需要多种微生物的协同作用,难以模拟自然条件下病原菌通过伤口或自然孔口侵入心材,分泌胞外酶降解木质素、纤维素等成分,导致心材褐变、空心化,并伴随白蚁等次生虫害加剧冷杉树木死亡的多年侵染过程(Sundararaj *et al.* 2023),这亦是心腐病研究的一大挑战。

综上所述,尽管致病性测定未呈现强致病力,林分中并存林芝异担子菌 *H. linzhiense* 等白腐菌,但无论从致病能力还是所致腐朽类型判断,亚红缘拟层孔菌 *F. subpinicola* 均在病害发生前期占据主导地位(Arač *et al.* 2021; Simpson *et al.* 2024; 王碧悦等 2024)。其在自然生态系统中更倾向于在树木弱势或存在伤口时定殖并加剧腐朽的病原菌,因此,针对该病原菌开展生防研究具有明确针对性。其他不同病原菌间的互作及其在不同生境下的致病动态,是后续需要深入探讨的方向。

3.2 拮抗木霉菌对 *F. subpinicola* 的抑菌能力

本研究成功筛选出对急尖长苞冷杉心腐病病原菌 *F. subpinicola* 具有拮抗作用的木霉菌,并评估了其挥发性代谢物和发酵滤液的抑菌活性。

平板对峙试验表明,7株木霉菌均能通过占据营养空间抑制病原菌生长。其中深绿木霉 *T. atroviride* M48 和非洲哈茨木霉 *T. afroharzianum* M28 菌丝生长迅速,最终占据平板面积超过2/3,可覆盖并消解病原菌菌落,体现了强大的空间竞争和营养争夺能力(Bedine *et al.* 2020; Marques *et al.* 2025)。哈茨木霉还能通过重寄生

作用导致病原菌菌丝稀疏卷曲、解体和死亡 (Pandey & Pundhir 2013; 遇文婧等 2019)。非洲哈茨木霉对多种病原菌都具有抑制作用, 其释放的挥发性有机化合物, 尤其是倍半萜类物质, 对多种真菌病原菌表现出显著抑菌活性(田森等 2023; 张芳 2023)。从山西大同的黄芪病根中分离的哈茨木霉 T9131 和宁夏吴忠分离的哈茨木霉 EMF910 都能抑制腐皮镰孢菌的生长, 表明哈茨木霉可作为内生菌存在于植物体内(Zhou *et al.* 2020; Guzman-Guzman *et al.* 2023; 张晓尘等 2024; 牛景萍等 2025), 这与本研究中木霉菌的分离来源结果一致, 在一定程度上表明该木霉菌具有开发为林木心材腐朽病生防菌剂的潜力。

在挥发性代谢物测定中, 所有木霉菌均表现出抑菌活性, 但效果存在显著差异。非洲哈茨木霉 M28 和深绿木霉 M49 的抑菌效果最强, 表明其挥发性代谢物中可能含有高效抑菌物质。木霉可产生包括烃类、醇类、木霉素等 70 余种次级代谢产物(Siregar *et al.* 2022), 梁松等 (2022) 研究也发现深绿木霉的挥发性烃类物质具有广谱抑菌性。

在发酵滤液抑菌试验中, 所有木霉菌的非挥发性代谢物均能抑制病原菌(图 12), 说明其发酵滤液中均存在抑制病原菌菌丝生长和孢子萌发的物质, 但抑菌效果随浓度和处理时间变化。非洲哈茨木霉 M28 和深绿木霉 M49 在各浓度下均保持较高抑菌率。近绿木霉 *T. paraviride* M43 和深绿木霉 *T. atroviride* M48 在 33% 浓度下增加, 但在 50% 浓度时活性衰减, 表明高浓度可能诱导代谢毒性或自抑制效应。多孢木霉 *T. polysporum* M41 的抑菌活性最弱, 虽然其可有效防治甜瓜枯萎病(Gava & Pinto 2016), 但其代谢物对本病原菌抑菌能力较弱。深绿木霉 M49 在高浓度下抑菌效果有所降低, 也可能与处理时间延长致其抑菌物质减少或菌体自抑制有关, 因此未来应用中需根据菌株生长特性注意浓度调控。

综合分析, 深绿木霉 M49 和非洲哈茨木霉 M28 的生防效果源于空间营养竞争与代谢产物

协同作用。非洲哈茨木霉 M28 生长速度快, 能产生色素并寄生病原菌菌丝(梁松等 2022), 深绿木霉产孢能力强, 抗菌谱广(遇文婧等 2019)。平板对峙与代谢物的协同作用为心腐病的生物防治提供了有效思路。

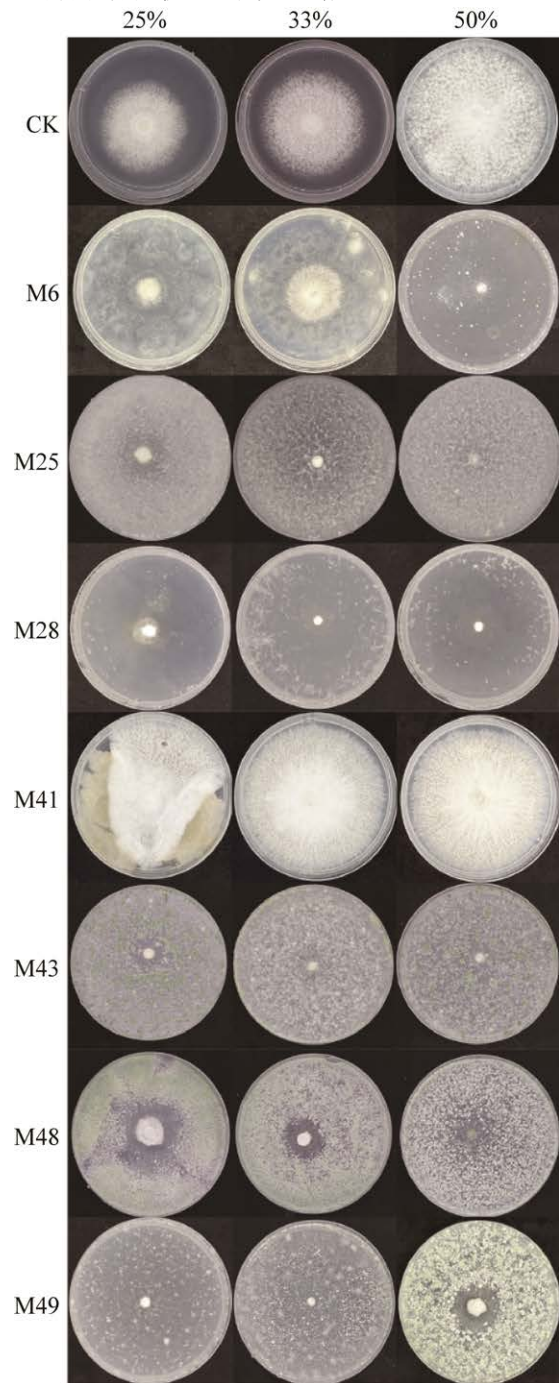


图 12 木霉菌不同浓度发酵滤液对 *Fomitopsis subpinicola* 的抑菌效果

Fig. 12 Inhibitory effects of culture filtrates from *Trichoderma* species at different concentrations against *Fomitopsis subpinicola*.

本研究为防治急尖长苞冷杉心腐病提供了具有潜力的生防菌株资源。后续研究应明确其挥发性代谢物中的关键抑菌物质、菌株产漆酶生物学特性并开发生防菌剂，以实现藏东南急尖长苞冷杉心腐病害的绿色有效防控。

致谢

感谢西南林业大学真菌分类和系统发育研究课题组赵长林老师在病原菌鉴定方面的帮助。

作者贡献

李杰婷：样品采集、试验操作、数据分析、论文撰写；李祎、刘昱灼：试验操作；陈刚刚、张一博：样品采集；姜宁：试验技术指导；王永林：试验方案指导；李江荣：试验方案指导、论文修改。

利益冲突声明

该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Abbey JA, Percival D, Abbey L, Asiedu SK, Prithiviraj B, Schilder A, 2019. Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) - prospects and challenges. *Biocontrol Science and Technology*, 29(3): 207-228
- Arač K, Kranjec Orlović J, Diminić D, 2021. Effect of fungus *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. on occurrence and development of false heartwood and rot in *Fagus sylvatica* L. round wood. *Croatian Journal of Forest Engineering: Journal for Theory and Application of Forestry Engineering*, 42(3): 529-542
- Arantes V, Goodell B, 2014. Current understanding of brown-rot fungal biodegradation mechanisms: a review. In: Schultz T, *et al.* (eds.) *Deterioration and protection of sustainable biomaterials*. American Chemical Society, Washington, DC. 3-21
- Arantes V, Jellison J, Goodell B, 2012. Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(2): 323-338
- Bedine Boat MA, Sameza ML, Iacomini B, Tchameni SN, Boyom FF, 2020. Screening, identification and evaluation of *Trichoderma* spp. for biocontrol potential of common bean damping-off pathogens. *Biocontrol Science and Technology*, 30(3): 228-242
- Carbone I, Kohn LM, 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91: 553-556
- Chen SC, 1959. Preliminary study on the spread of concealed rot disease of fir in southwest forest region. *Scientia Silvae Sinicae*, 5(1): 55-67 (in Chinese)
- Cui YJ, Wang CG, Dai YC, Liu S, Ren H, Schultes NP, Kaishian PO, Paine E, Yuan Y, Li DW, Zhao H, 2025. Phylogeny, divergence times, and biogeography of the phytopathogenic fungal genus *Phaeolus* (Basidiomycota, Polyporales). *Journal of Systematics and Evolution*, <http://doi.org/10.1111/jse.13187>
- Dai YC, 2010. Hymenochaetaceae (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity*, 45: 131-343
- Dai YC, 2012. Wood-decaying fungi in woody pathogens of China. *Mycosystema*, 31(4): 493-509 (in Chinese)
- Dai YC, Fan LF, Chen JJ, Wu CP, Wu YD, Yuan Y, 2021a. Species diversity of the conifer pathogen *Heterobasidion* (Basidiomycota) and related quarantine suggestions. *Mycosystema*, 40(8): 1958-1964 (in Chinese)
- Dai YC, Qin GF, Xu MQ, 2000. Wood-inhabiting fungi in northeast China. *Forest Research*, 13(1): 18-25 (in Chinese)
- Dai YC, Wu XL, Wei YL, Lu JC, 2004. Stem rot of *Acacia confusa* in Hainan Province. *Forest Research*, 17(3): 352-355 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Wu G, Yuan HS, Zhou LW, He SH, Ge ZW, Wu F, Wei YL, Yuan Y, Si J, 2021b. Diversity and systematics of important macrofungi in Chinese forests. *Mycosystema*, 40(4): 770-805 (in Chinese)
- Fu FW, Li JR, Li SF, Chen WS, Ding HH, Xiao SY, Li YY, 2023. Elevational distribution patterns and drivers of soil microbial diversity in the Sygera Mountains, southeastern Xizang, China. *Catena*, 221: 106738
- Gava CAT, Pinto JM, 2016. Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. *Biological Control*, 97: 13-20
- Guzman-Guzman P, Kumar A, Santos-Villalobos S, Parra-Cota FI, Orozco-Mosqueda MDC, Fadji AE, Hyder S, Babalola OO, Santoyo G, 2023. *Trichoderma* species: our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases – a review. *Plants*, 12(3): 432
- Hu ZZ, 2020. Identification of pathogens causing several tree root and stem rot diseases caused by *Phellinus* in tropical China. MS Thesis, Hainan University, Haikou. 1-63 (in Chinese)

- Jha SK, 2020. Identification and management of heart-rot fungi. *Banko Janakari*, 30(2): 71-77
- Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD, 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, 20: 1160-1166
- Kaya AGA, Beram RC, Lehtijarvi HTD, Lehtijarvi A, Woodward S, 2022. Occurrence and frequency of wood decay fungi latently present in living *Abies cilicica* and *Abies bornmulleriana* in Western Türkiye. *Fresenius Environmental Bulletin*, 31(7): 6973-6980
- Li SJ, Zhu TH, 2011. Macrofungi and wood decay. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 32(1): 59-64 (in Chinese)
- Liang S, Wang JX, Wei TT, Zhang JL, Hu CY, Yao YP, 2022. Study on antifungal activity of *Trichoderma atroviride* T1 and *Trichoderma harzianum* T21 and their growth-promoting effects on tomato seedlings. *Tianjin Agricultural Sciences*, 28(6): 80-86 (in Chinese)
- Liang XJ, Liu ZH, Zhang P, Gao M, Wu LW, Wang YD, Yu MY, Chen YC, 2020. Isolation, identification and antifungal activity of *Trichoderma* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *aleuritidis*. *Mycosystema*, 39(5): 795-805 (in Chinese)
- Liu S, Chen YY, Sun YF, He XL, Song CG, Si J, Liu DM, Gates G, Cui BK, 2023. Systematic classification and phylogenetic relationships of the brown-rot fungi within the Polyporales. *Fungal Diversity*, 118(1): 1-94
- Liu S, Han ML, Xu TM, Wang Y, Wu DM, Cui BK, 2021. Taxonomy and phylogeny of the *Fomitopsis pinicola* complex with descriptions of six new species from East Asia. *Frontiers in Microbiology*, 12: 644979
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD, 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1799-1808
- Lu ZT, 2023. Isolation and identification of *Trichoderma* in Hunhe River Source Area and its biocontrol effect on poplar leaf blight caused by *Nigrospora oryzae*. MS Thesis, Shenyang Agricultural University, Shenyang. 1-51 (in Chinese)
- Luo DQ, Guo QS, Huang J, Pan G, Xin XB, Zheng WL, 2004. Characteristics of dead woods in primitive *Abies* forest in Sejila Mountain, Xizang. *Acta Ecologica Sinica*, 24(3): 635-639 (in Chinese)
- Mao XL, 2000. Macrofungi of China. Henan Science and Technology Press, Zhengzhou. 1-719 (in Chinese)
- Marques E, Silva MR, Soares WM, Junior EPR, Ferreira YJA, Rios EFB, da Cunha MG, 2025. Assessment of antagonistic activity and tomato disease suppression by Brazilian strains of *Trichoderma afroharzianum*. *European Journal of Plant Pathology*, 173: 611-628
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T, 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. New Orleans. DOI: 10.1109/GCE.2010.5676129
- Muthukumar A, Eswaran A, Sanjeevkumas K, 2011. Exploitation of *Trichoderma* species on the growth of *Pythium aphanidermatum* in chilli. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 1598-1607
- Niu JP, Yan X, Bai YG, Li WD, Shi ZY, Liang JP, Li YF, Li B, Zhao X, 2025. Identification of *Trichoderma harzianum* T9131 and analysis of its antagonism against pathogens and induced resistance in *Astragalus membranaceus*. *Guihaia*, 45(8): 1508-1517 (in Chinese)
- Pandey KK, Pitman AJ, 2003. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(3): 151-160
- Pandey S, Pundhir VS, 2013. Mycoparasitism of potato black scurf pathogen (*Rhizoctonia solani* Kühn) by biological control agents to sustain production. *Indian Journal of Horticulture*, 70(1): 71-75
- Reino JL, Guerrero RF, Hernández-Galán R, Collado IG, 2008. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, 7(1): 89-123
- Simpson HJ, Andrew C, Skrede I, Kausered H, Schilling JS, 2024. Global field collection data confirm an affinity of brown rot fungi for coniferous habitats and substrates. *New Phytologist*, 242: 2775-2786
- Siregar BA, Liantiqomah D, Halimah, Tjahjono B, 2022. Screening of endophytic *Trichoderma* isolates to improve the growth and health of *Eucalyptus pellita* seedlings. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 974: 012084
- Sundararaj R, Swetha, Mondal S, Kantha Reddy M, Raja Rishi R, Mamatha N, 2023. Incidence and effect of heart rot in marayur sandalwood (*Santalum album* L.) reserve, Kerala, and its natural durability against fungi. *Forest Science*, 69(2): 133-142
- Tang RY, Wang BS, Dong CX, Niu QC, Yin SX, 2023. Preliminary study on the mechanism of *Trichoderma asperellum* 152-42 induced resistance against brown patch in perennial ryegrass. *Acta Agrestia Sinica*, 31(5): 1314-1321 (in Chinese)
- Tian M, Peng YF, Lü H, Qin N, Ren L, Yin H, Zhao XJ, 2023. Identification, biological characteristics of *Trichoderma afroharzianum* strain LMNS-M9 from Africa and its

- growth-promoting effect on quinoa. *Microbiology China*, 50(9): 3848-3865 (in Chinese)
- Wang BY, Ma TF, Shang MM, Zhong X, Fu YT, Sun WG, Fan LF, 2024. Investigation on wood-rotting fungal resources in Xinglong Mountain National Nature Reserve. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 33(11): 2179-2193 (in Chinese)
- Wang R, An XY, Lv YD, Khan RAA, Xue M, Chen J, Liu T, 2023a. *Trichoderma asperellum* GD040 upregulates defense-related genes and reduces lesion size in *Coffea canephora* leaves inoculated with *Colletotrichum cairnsense*. *Biological Control*, 185: 105213
- Wang R, Yu XL, Yin YP, Norvienyeku J, Khan RAA, Zhang MM, Ren S, Chen J, Liu T, 2023b. Biocontrol of cucumber Fusarium wilt by *Trichoderma asperellum* FJ035 dependent on antagonism and spatiotemporal competition with *Fusarium oxysporum*. *Biological Control*, 186: 105334
- Wang RH, Pan G, Zhang XJ, Li JR, Zhang XJ, 2021. Influencing factors of natural regeneration of *Abies georgei* var. *smithii* seedlings in Sejila Mountain. *Journal of Zhejiang A & F University*, 38(3): 652-658 (in Chinese)
- Wang S, Xie Y, 2004. China Species red list. Vol. 1: red list. Higher Education Press, Beijing. 20-224 (in Chinese)
- Wei JG, Pan XH, 2005. Preliminary investigation on wood rot of Chinese fir. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 33(S1): 115-117 (in Chinese)
- Wei X, Cao CX, Huang DY, Yao JW, Yuan QF, 2024. Research progress on biocontrol mechanisms of *Trichoderma* and synergistic disease control. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 26(11): 126-135 (in Chinese)
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego. 315-322
- Wu F, Dai SJ, Vlasák J, Spirin V, Dai YC, 2019. Phylogeny and global diversity of *Porodaedalea*, a genus of gymnosperm pathogens in the Hymenochaetales. *Mycologia*, 111(1): 40-53
- Wu F, Zhou LW, Vlasák J, Dai YC, 2022. Global diversity and systematics of Hymenochaetaceae with poroid hymenophore. *Fungal Diversity*, 113: 1-192
- Wu ZY, 1983. *Flora Xizangica* (Tomus 1). Science Press, Beijing. 354-387 (in Chinese)
- Xing YJ, Wang QG, Gao XX, 2007. Correlation between decline and diseases & pests in valley spruce-fir forests in the eastern mountainous region of Heilongjiang Province. *Journal of Northeast Forestry University*, 35(7): 4-6 (in Chinese)
- Xu TM, Wu DM, Gao N, Liu S, Sun YF, Cui BK, 2025. Species diversity, taxonomic classification and ecological habits of polypore fungi in China. *Mycology*, 16(2): 419-544
- Yu WJ, Yang S, Diao GP, 2019. Effects of *Trichoderma atroviride* on growth and resistance to leaf blight of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*. *Journal of Northeast Forestry University*, 47(1): 71-75 (in Chinese)
- Yuan HS, Wei YL, Zhou LW, Qin WM, Cui BK, He SH, 2019. Potential distribution and niche analysis of four pathogenic wood-decay fungi on living trees in northeast China. *Biodiversity Science*, 27(8): 873-879 (in Chinese)
- Yuan Y, Bian LS, Wu YD, Chen JJ, Wu F, Liu HG, 2023. Species diversity of pathogenic wood-rotting fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) in China. *Mycology*, 14(3): 204-226
- Yuan Y, Wu YD, Wang YR, Zhou M, Qiu JZ, Li DW, Vlasák J, Liu HG, Dai YC, 2022. Two new forest pathogens in *Phaeolus* (Polyporales, Basidiomycota) on Chinese coniferous trees were confirmed by molecular phylogeny. *Frontiers in Microbiology*, 13: 942603
- Zhang F, 2023. Identification of antifungal volatile organic compounds from *Trichoderma afroharzianum* ACCC 33109 and study on their biosynthetic enzyme genes. MS Thesis, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. 1-80 (in Chinese)
- Zhang XC, Zhang HJ, Li SB, Dong ZD, Long SP, Huang XG, Guo LP, Kang CZ, Liang J, Ma XK, 2024. Control effect of *Trichoderma harzianum* EMF910 on pathogenic fungi of *Astragalus* root rot in saline-alkali area of Ningxia. *Microbiology China*, 51(10): 4162-4180 (in Chinese)
- Zhang YB, Guo LN, Li JR, Zhang B, Zhu SJ, Chen GG, 2024. Impact of heart rot on radial growth of *Abies georgei* var. *smithii* in Sejila Mountain. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 35(11): 2951-2958 (in Chinese)
- Zhou C, Guo RT, Ji SD, Fan HJ, Wang JJ, Wang YC, Liu ZH, 2020. Isolation of *Trichoderma* from forestry model base and the antifungal properties of isolate TpsT17 toward *Fusarium oxysporum*. *Microbiological Research*, 231: 126371
- Zhou LJ, Geng BB, Zhang GL, Zhang YH, Tian XM, 2023. Diversity and resources of wood-decaying fungi in Shandong Province. *Mycosystema*, 42(12): 2331-2355 (in Chinese)

[附中文参考文献]

- 陈守常, 1959. 西南林区冷杉隐蔽性腐朽病蔓延的初步研究. *林业科学*, 5(1): 55-67
- 戴玉成, 2012. 中国木本植物病原木材腐朽菌研究. *菌物*

- 学报, 31(4): 493-509
- 戴玉成, 范龙飞, 陈佳佳, 吴翠萍, 武英达, 员瑗, 2021a. 针叶树病原菌担子菌属的物种多样性及相关检疫建议. 菌物学报, 40(8): 1958-1964
- 戴玉成, 秦国夫, 徐梅卿, 2000. 中国东北地区的立木腐朽菌. 林业科学研究, 13(1): 18-25
- 戴玉成, 吴兴亮, 魏玉莲, 卢家川, 2004. 中国海南台湾相思树干基腐朽病. 林业科学研究, 17(3): 352-355
- 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 吴刚, 袁海生, 周丽伟, 何双辉, 葛再伟, 吴芳, 魏玉莲, 员瑗, 司静, 2021b. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究. 菌物学报, 40(4): 770-805
- 胡真臻, 2020. 我国热区木层孔菌属所致几种林木根腐及茎腐病的病原菌鉴定. 海南大学硕士论文, 海口. 1-63
- 李姝江, 朱天辉, 2011. 大型真菌与立木腐朽. 四川林业科技, 32(1): 59-64
- 梁松, 王建霞, 魏甜甜, 张静蕾, 胡春艳, 姚艳平, 2022. 深绿木霉 T1 和哈茨木霉 T21 抑菌活性及对番茄幼苗促生效果研究. 天津农业科学, 28(6): 80-86
- 梁晓洁, 刘志华, 张平, 高暝, 吴立文, 汪阳东, 余孟杨, 陈益存, 2020. 抗油桐枯萎病木霉菌的分离鉴定及抑菌作用研究. 菌物学报, 39(5): 795-805
- 鲁展彤, 2023. 浑河源地区木霉菌分离鉴定及对稻黑孢引起的杨树叶枯病的生防效果. 沈阳农业大学硕士论文, 沈阳. 1-51
- 罗大庆, 郭泉水, 黄界, 潘刚, 辛学兵, 郑维列, 2004. 西藏色季拉原始冷杉林死亡木特征研究. 生态学报, 24(3): 635-639
- 卯晓岚, 2000. 中国大型真菌. 郑州: 河南科学技术出版社. 1-719
- 牛景萍, 燕翔, 白雨果, 李婉迪, 石志勇, 梁建萍, 李玉芳, 李飏, 赵祥, 2025. 哈茨木霉 T9131 鉴定及其拮抗病原菌和诱导黄芪抗病的作用分析. 广西植物, 45(8): 1508-1517
- 唐若怡, 王柏森, 董纯辛, 牛启尘, 尹淑霞, 2023. 棘孢木霉 152-42 诱导多年生黑麦草抗褐斑病的机理初探. 草地学报, 31(5): 1314-1321
- 田森, 彭玉飞, 吕红, 秦楠, 任璐, 殷辉, 赵晓军, 2023. 非洲哈茨木霉 LMNS-M9 的鉴定、生物学特性及其对藜麦的促生作用. 微生物学通报, 50(9): 3848-3865
- 王碧悦, 马天甫, 尚敏敏, 钟雪, 付玉婷, 孙伟刚, 范龙飞, 2024. 兴隆山国家级自然保护区木腐真菌资源调查. 西北农业学报, 33(11): 2179-2193
- 王瑞红, 潘刚, 张新军, 李江荣, 张新建, 2021. 色季拉山急尖长苞冷杉幼苗天然更新的影响因子研究. 浙江农林大学学报, 38(3): 652-658
- 汪松, 解焱, 2004. 中国物种红色名录. 第一卷: 红色名录. 北京: 高等教育出版社. 20-224
- 危潇, 曹春霞, 黄大野, 姚经武, 袁勤峰, 2024. 木霉菌生防作用机制及协同防病的研究进展. 中国农业科技导报, 26(11): 126-135
- 韦继光, 潘秀湖, 2005. 杉木立木腐朽病的初步调查. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 33(S1): 115-117
- 吴征镒, 1983. 西藏植物志(第一卷). 北京: 科学出版社. 354-387
- 邢亚娟, 王庆贵, 高兴喜, 2007. 黑龙江省东部山区谷地云冷杉林衰退与病虫害的相关性. 东北林业大学学报, 35(7): 4-6
- 遇文婧, 杨帅, 刁桂萍, 2019. 深绿木霉对山新杨生长及抗叶枯病能力的影响. 东北林业大学学报, 47(1): 71-75
- 袁海生, 魏玉莲, 周丽伟, 秦问敏, 崔宝凯, 何双辉, 2019. 东北 4 种林木干基腐朽病原真菌潜在分布范围预测及其生态位分析. 生物多样性, 27(8): 873-879
- 张芳, 2023. 非洲哈茨木霉 ACCC 33109 抑菌挥发性物质鉴别及合成酶基因研究. 中国农业科学院硕士学位论文, 北京. 1-80
- 张晓尘, 张红杰, 李生兵, 董振东, 龙澍普, 黄新国, 郭兰萍, 康传志, 梁健, 马小魁, 2024. 哈茨木霉 EMF910 对宁夏盐碱地区黄芪根腐病致病菌的防治作用. 微生物学通报, 51(10): 4162-4180
- 张一博, 郭亮娜, 李江荣, 张波, 朱思洁, 陈刚刚, 2024. 心材腐烂对色季拉山急尖长苞冷杉径向生长的影响. 应用生态学报, 35(11): 2951-2958
- 周林江, 耿彬彬, 张国利, 张英昊, 田雪梅, 2023. 山东省木材腐朽真菌多样性和资源. 菌物学报, 42(12): 2331-2355