

## 杨树重要病害生物防治初探\*

向玉英

(中国林业科学研究院林业研究所)

**关键词** 杨树病害; 生物防治; 拮抗作用; 病原菌; 益菌

自然界各种微生物生活在一起, 成为复杂的群落。它们相互促进、制约, 构成生物体的生态平衡。在森林病害防治中, 利用益菌控制病菌的生存和活动, 达到生物防治的目的。为了寻求这一新途径, 在1982—1984年, 对4种杨树重要病害进行了生物防治探索, 从筛选和防病上作了研究。

### 一、材料和方法

#### (一) 菌种来源

试验菌(益菌)采用11种菌, 其中细菌4种(*Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. sp.* (M)); 木霉菌4种(*Trichoderma lignorum*, *T. sp.* (11), *T. sp.* (42), *T. viride*); 其它真菌2种(*Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum*)和放线菌1种(*Streptomyces griseus*)。由中国科学院菌种保藏委员会及贵州省林科所胡炳福同志供给。据文献报道上述各菌对某些病原菌具有一定的拮抗作用及抑制作用<sup>[4,7]</sup>。

测试菌(病菌)测定从自然病斑中分离到的4种病原菌: 杨树叶部黑斑病(*Marssonina brunnea*)和炭疽病(*Gloesporium tremulae*), 干部溃疡病(*Dothiorella gregaria*)和腐烂病(*Cytospora chrysosperma*)。

#### (二) 室内拮抗作用测定

1. 菌丝 在马铃薯平板培养基上, 两端分别接益菌和病菌, 间距2—4 cm, 5 d后检查抑菌圈的大小。细菌是在马铃薯、牛肉汁混合培养基(1:1)平板上, 采用T字形接种, 5 d后检查病原菌的抑菌线长短。以上方法每种均处理5皿, 重复3次。

2. 孢子 ①将培养24 h的供试斜面细菌, 每管放入2 ml无菌水, 制成悬浮液; ②用无菌水制成每视野约50个孢子的病菌悬浮液; ③其步骤为各取上述两种液体2滴混合均匀, 用纸环法<sup>[6]</sup>作孢子发芽, 在25℃温箱中保湿培养24 h, 检查病原菌孢子的发芽和被溶解情况。

3. 抗菌物质 将筛选出拮抗作用较好的细菌接入液体牛肉汁培养基中, 真菌接入察氏液体培养基中, 在25℃下振荡培养。细菌培养3 d, 每天振荡8次, 每次10 min; 真菌5 d, 每天4次, 每次20 min。

本文于1988年2月22日收到。

\*工作中承蒙陈延熙教授和郭秀珍研究员热情指导, 张丽华和田淑敏同志参加部分试验, 特此一并致谢。

将消毒不锈钢圈放在混有病原菌孢子液的固体培养基中, 每皿放3个, 将益菌滤液放5滴在钢圈中, 在25℃温箱中培养5d, 测钢圈周围的抑菌圈大小。

### (三) 室外试验

1. 植株上益菌的存活 将益菌喷接于室外杨树叶片上, 每半月采叶进行分离培养, 观察菌落数。

2. 不同时期喷接益菌 在植株上①喷接益菌3d后接入病菌; ②益、病菌混合喷接; ③喷接病菌3d后再接益菌。一个月后检查发病情况。

## 二、试验结果

### (一) 室内试验

1. 4种木霉菌对病原菌菌丝的作用 从表1看出, 木霉菌(*T. sp.*(42), *T. viride*, *T. sp.*(11))比溃疡病菌、腐烂病菌生长快约2—3倍, 益菌将病菌覆盖和包围(图版I-1a, b), 有优先占领的作用。病菌的形态发生扭曲变形(图版I-2)。

2. 细菌对病菌菌丝和孢子的作用 从表2看出, *P. fluoracens*对炭疽病菌和腐烂病菌效果较好, 能抑制菌丝生长约3倍(图版I-3a, b)。而*B. pumilus*、*B. subtilis*和*P. sp.*(M)对炭疽病菌、腐烂病菌和黑斑病菌的作用不明显。

表1 4种木霉菌对病菌的作用

(单位: cm)

病菌	试验菌	益菌指向病菌的菌落半径	病菌指向益菌的菌落半径	对照半径
溃疡病	<i>T. sp.</i> (42)	4.3	0.7	2.8
	<i>T. viride</i>	3.7	1.1	
	<i>T. sp.</i> (11)	3.6	0.9	
	<i>T. lignorum</i>	1.3	4.0	
腐烂病	<i>T. sp.</i> (42)	3.8	1.0	3.0
	<i>T. viride</i>	3.4	1.5	
	<i>T. sp.</i> (11)	2.7	0.1	
	<i>T. lignorum</i>	0.9	4.3	
黑斑病	<i>T. sp.</i> (42)	2.0	1.0	3.4
	<i>T. viride</i>	2.8	1.2	
	<i>T. sp.</i> (11)	1.8	1.3	
	<i>T. lignorum</i>	0.3	1.4	
炭疽病	<i>T. sp.</i> (42)	4.0	1.0	2.0
	<i>T. viride</i>	3.2	1.5	
	<i>T. sp.</i> (11)	1.8	1.5	
	<i>T. lignorum</i>	0.6	1.5	

表2 细菌对病菌的拮抗作用

病菌	试验菌	抑制菌丝生长长度(cm)
炭疽病	<i>P. fluoracens</i>	4.2
	<i>B. subtilis</i>	1.0
	<i>B. pumilus</i>	0.8
	<i>P. sp.</i> (M)	0.5
	对照	0
腐烂病	<i>P. fluoracens</i>	4.4
	<i>B. subtilis</i>	1.5
	<i>B. pumilus</i>	1.1
	<i>P. sp.</i> (M)	0.5
	对照	0
黑斑病	<i>B. subtilis</i>	0.6
	<i>B. pumilus</i>	0.5
	<i>P. fluoracens</i>	0
	<i>P. sp.</i> (M)	0
	对照	0

3. 几种菌液对病原菌孢子发芽的影响 从表3看出几种菌液对4种病菌孢子发芽有影响, 其中*B. pumilus*和*B. subtilis*降低腐烂病和炭疽病菌孢子发芽很明显。细菌接触病菌孢子后, 随着时间的增加而孢子数量减少, 看出成团的孢子有不断溶解的现象。另外, *P. sp.*(M)对4种病菌孢子的溶解作用也较明显。

4. 不同时间接种益菌的效应 从表4看出, 不同时间接菌其效果不同。先接益菌, 后接

表 3 几种菌液对病原菌孢子发芽的影响

病 菌	发 芽 (%)	菌 液				对 照 (无菌水)
		<i>B. pumilus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. sp. (M)</i>	<i>S. griseus</i>	
炭 疽 病		7.3*	0*	20.2*	16.4	24.3
腐 烂 病		33.5*	51.5	0*	69.3	0
黑 斑 病		50.0	50.2	23.2*	50.0	64.0
溃 瘍 病		48.4	5.4*	60.4	76.6	83.5

注: \*有溶解; 0孢子未发芽

病菌的表现较好, 益菌先占领阵地, 使病菌不能生长; 先接病菌, 后接益菌, 病菌占了优势, 益菌发挥不了作用; 将两种菌混合同时接入时, 益菌不能控制病菌, 二者均生长。*B. subtilis*、*B. pumilus*和*P. sp. (M)*对腐烂病菌、炭疽病菌在16 d内有抑制生长的作用, 而对黑斑病菌在第三天后就无抑制作用了。*P. fluoracens*对4种病原菌的有效抑制时间约一周。

表 4 不同时间接种益菌的效应

病 菌	益 菌 悬 浮 液	益 菌 在 病 菌 前 接 种	病 菌 在 益 菌 前 接 种	益 菌、病 菌 混 合 接 种	
				益 菌 菌 落 (cm)	病 菌 菌 落 (cm)
炭 疽 病	<i>B. subtilis</i>	0	+	2.0	5.0
	<i>B. pumilus</i>	0	+	0.5	0.8
	<i>P. sp. (M)</i>	0	+	0.2	0.5
	<i>S. griseus</i>	0	+	3.0	8.0
	四环素200 ppm	+	+	0.2	4.0
腐 烂 病	<i>S. griseus</i>	0	+	1.5	5.0
	<i>B. subtilis</i>	0	+	0.5	1.0
	<i>B. pumilus</i>	0	+	0.3	0.6
	<i>P. sp. (M)</i>	0	+	0	8.0
	四环素200 ppm	+	+	0.2	4.0
	水	+	+	8.0	8.5

注: 0无病菌菌落生长; +有病菌菌落生长。

## (二) 室外试验

1. 益菌在田间的存活 在病害发生季节, 将益菌接种在本院丰产林苗圃的1年生北京杨上, 每半月取样分离, 观察益菌在野外植株上保存时期, 其结果见表5。从中可见*T. viride*、*B. subtilis*、*P. fluoracens*、*S. griseus*在自然情况下均能生存, 说明益菌在杨树生长期中, 可以在植株上保存3—4个月, 但随着环境温湿度及其它因子的影响, 而有增减。

2. 不同接种时期的发病情况 以炭疽病为例, 采用不同接种时期, 观察其发病情况。从表6看出, 在防治炭疽病时, 先喷益菌后喷病菌的可以控制病害的发生。而益菌和病菌同时喷或先喷病菌后喷益菌的防治效果都较差。此结果和室内测定一致。

表5 杨树植株上益菌存活时期

益菌名称	接种数 (株)	接种日期	接种部位	分离日期	菌落百分率① (%)
<i>T. viride</i>	10	5月23日	叶	6月11日	66.7
				6月26日	62.5
				7月12日	16.7
				7月29日	50.0
<i>T. viride</i>	10	5月23日	干	7月12日	100.0
				7月29日	37.5
				8月16日	46.2
				9月9日	50.0
				9月26日	50.0
<i>S. griseus</i>	10	6月12日	叶	6月26日	100.0
				7月12日	85.7
				7月29日	21.1
				8月16日	50.0
				9月9日	12.5
<i>P. fluoracens</i>	10	8月8日	叶	8月26日	100.0
				9月9日	100.0
				9月26日	100.0
<i>S. griseus</i>	10	8月8日	叶	8月26日	25.0
				9月9日	12.0
				9月26日	0

① 每种菌培养5皿，接菌25个。

表6 不同接种时期炭疽病的发病情况

益菌	接种时期	接种株	发病株
<i>S. griseus</i>	先喷益菌后喷炭疽菌	10	0
	先喷炭疽菌后喷益菌	10	4
	两种菌同时喷	9	6
<i>P. fluoracens</i>	先喷益菌后喷炭疽菌	15	0
	先喷炭疽菌后喷益菌	10	6
	两种菌同时喷	9	6
对照(无菌水)		12	8

## 三、结 语

1. 生物防治杨树病害为一新的探索。试验中用了11种拮抗性益菌，测定了杨树叶部和干部病害各两种。结果看出对4种病菌，益细菌比木霉菌效果好，木霉菌比供试的其它真菌好，具体结果是：细菌*P. fluoracens*，*B. subtilis*，*B. pumilus*和放线菌*S. griseus*对腐烂病菌、炭疽病菌效果较好；木霉菌*T. sp.* (42)，*T. viride*和*T. sp.* (11)对

溃瘍病菌和腐烂病菌较好。益细菌的菌液和浸出过滤液对4种病菌孢子的发芽有抑制和溶解作用。

2. 益菌对病菌的作用表现为覆盖和抑制，起机械屏障作用(图版I-1,4)；或溶解病菌孢子和降低孢子的发芽率。所以从室外试验看出，益菌在病害发生之前喷施效果较好，它们优先占领寄主，抑制和阻碍入侵病菌的发展，主要起预防作用。

3. 益菌抑制病菌的有效时间约半个月，益菌在野外寄主上存活时间为3—4个月，所以今后应研究益菌的生态学和生物学特性，以便满足益菌生长繁殖的要求，能稳定地发挥抑

制病原菌的作用。

### 参 考 文 献

- [1] 裘维善, 1979, 国际植物病理学的进展, 北京农业大学, (2):18—23。
- [2] 陈延燕, 1979, 试谈植物病害的生物防治, 植病生防, (1): 1—13。
- [3] 徐春城, 1978, 生物防治棉花病害的现状 & 展望, 辽宁棉麻科技, (1): 1—5。
- [4] Baker, K., 1973, Biological control of plant pathogens, *Phytopathology*, 4(11):273—292.
- [5] Kerr, A., 1972, Biological control of crown gall, *J. Appl. Bact.*, 5(35):493—497.
- [6] 南京林业大学林病教研组, 1978, 真菌孢子萌发纸环法, 南林科技, (3):49—50。
- [7] 胡炳福, 1986, 两种抗生细菌应用研究, 林业科技通讯, (6):26—28。

## PRELIMINARY STUDY ON THE BIOLOGICAL CONTROL OF POPLAR DISEASES

Xiang Yuying

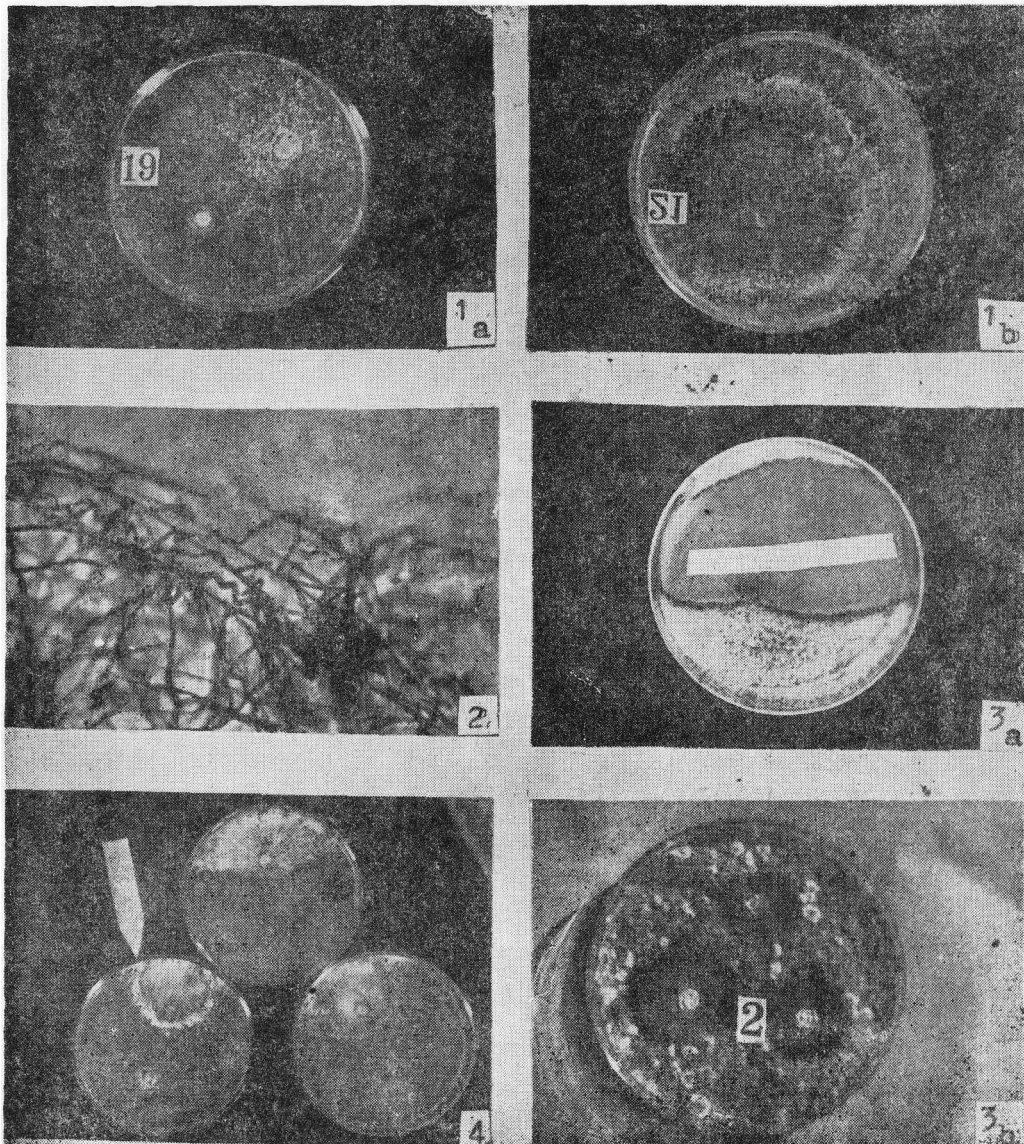
(The Research Institute of Forestry CAF)

**Abstract** Biological control of poplar diseases is a preliminary study in China.

The results of trials were as follows: the control effects of *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *B. pumilus* and *Streptomyces griseus* against *Cytospora chrysosperma* and *Gloesporium tremulae* were promising. The control effects of *Trichoderma* sp. (42), *T. viride* and *T. sp.* (11) against *Dothiorella gregaria* and *C. chrysosperma* were promising, too. The control effects of *B. subtilis*, *B. pumilus*, *Pseudomonas* sp. (M), *T. sp.* (42), *T. viride*, *T. sp.* (11) against *Marssonina brunnea* were no striker.

Using beneficial bacteria against spores of the tested poplar pathogens, the author found there were lysis and fungistatic action. Using beneficial fungi against the above mentioned pathogens there were no fungistatic action.

**Key words** poplar diseases; biological control; fungistatic action; pathogens; beneficial fungi and bacteria



1a. 木霉菌(42)包围溃疡病菌，1b. 木霉菌(32)覆盖和包围腐烂病菌。  
2. 腐烂病菌菌丝在木霉(32)作用下扭曲变形。  
3a. 细菌(33)对炭疽病的抑菌作用，3b. 放线菌对腐烂病菌的抑菌作用。  
4. 木霉菌对溃疡病菌产生屏障作用(箭头指向处)。