

松材线虫和拟松材线虫不同株系 致病性的研究*

胡凯基 王秋丽 杨宝君

摘要 1990~1993年,从国内外收集的松材线虫9个株系和拟松材线虫5个株系,用皮接法接种3~6年生的松苗,测定线虫的致病性。结果表明,松材线虫的致病力明显高于拟松材线虫,其中国内的5个株系致病力最高。拟松材线虫通常不致病或致病力极低。在同一线虫种内,株系间致病力随寄主不同而不同。在寄主死亡速度上,寄主相同并死亡率相同或相近时,采自南京、广东马尾松病树上的线虫株系接种后,寄主平均死亡时间略短于其它株系。供试的8种松树,依死亡率及感病率,马尾松最为抗病,黑松、华山松最为感病。

关键词 松材线虫、拟松材线虫、致病性

由松材线虫(*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle)引起的松材线虫病已经给我国的松林资源造成了严重损失。自1982年在江苏南京中山陵发现该病后,又相继在安徽、广东、浙江、山东等地发现。令人关注的是松材线虫病在广东的寄主为马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.),在南京病区近年也出现了马尾松病树,而以前的一些研究工作表明,马尾松对松材线虫具有高度抗性^[1,2]。据Tomoya Kiyohara等报道^[3],从日本松材线虫分布区内收集的37个样品的线虫,其致病力各不相同,部分高致病力的株系来自近年发生该病的北部,另外还分离出无致病力的株系。美国的研究发现线虫致病力有差异,且分离出寄主专化型的具尾尖的‘M’型松材线虫^[4]。Bolla等^[5,6]还发现线虫的代谢活动也存在差异。由于线虫的致病性是影响松材线虫病流行的重要因素,因此,对国内外病区的松材线虫包括拟松材线虫(*Bursaphelenchus mucronatus* Mamiya et Enda)进行致病性的比较研究具有重要意义。本文总结了作者1990~1993年间的研究结果。

1 材料和方法

1.1 线虫来源及培养

选用了从国内外不同地区收集的松材线虫及拟松材线虫共14个株系。其中松材线虫9个,分别为南黑(采自南京,黑松 *Pinus thunbergii* Parl.)、南马(南京,马尾松)、南火(南京,火炬松 *P. taeda* Linn.)、山东(山东,黑松)、广东(广东,马尾松)、S-6(日本,黑松)、STJ(加拿大,针叶树木削片)、STW(加拿大,南欧海松 *P. pinaster* Ait.)、BXBC(加拿大,针叶树木削片);拟松材线虫5个,分别为四川(四川,马尾松)、江西(江西,马尾松)、BF(法国,南欧海松)、Q1426(加拿大,针叶树木削片)、NW(挪威,针叶树木削片)。

1993-10-14 收稿。

胡凯基助理研究员,王秋丽,杨宝君(中国林业科学研究院森林保护研究所 北京 100091)。

* 本文为国家科委重点科技项目“松材线虫病的研究”及国家自然科学基金资助项目“松树对松材线虫病抗病性的研究”的部分内容。

上述线虫在 PDA 平板上多毛孢(*Pestalotia* sp.)或裂褶菌(*Schizophyllum* sp.)的菌丝层上扩大繁殖后,用漏斗法分离线虫,蒸馏水冲洗,镜检计数,再浓缩即可。对照用蒸馏水。

1.2 供试树苗

共选用 8 种松树,树龄为 3~6 年生,分别为黑松、华山松(*Pinus armandi* Franch)、樟子松(*P. sylvestris* Linn. var. *mongolica* Litv.)白皮松(*P. bungeana* Zucc. ex Endl.)油松(*P. tabulaeformis* Carr.)、马尾松、欧洲赤松(*P. sylvestris* L.)、美国五针松(*P. strobus* L.)。

1.3 接种试验

采用人工皮接法。第一次接种于 1990 年 6~7 月,在北京中国林科院林研所苗圃进行。选用的松材线虫有南黑、南马、南火、S-6、STJ、STW、BxBC 株系,拟松材线虫有 BF、NW、Q1426 株系。供试树种为樟子松、白皮松、华山松、油松、欧洲赤松和美国五针松。每个处理 8~10 株松苗,每株接种线虫 1 500 条(多毛孢上培养)。每种树设 8~10 株对照。

第二次接种于 1990 年 9 月,在南京老山林场进行。采用的松材线虫有南黑、南马、广东、STJ、BxBC 株系,拟松材线虫为江西、BF、NW、Q1426 和四川株系。供试树种为黑松。每株系接种 7~10 株苗,每株接种线虫 1 500 条(多毛孢上培养)。另设 10 株对照。

第三次接种于 1991 年 5 月,在江西大岗山中国林科院亚热带林业实验中心苗圃进行。采用松材线虫南黑、山东、广东、STJ、BxBC 株系,拟松材线虫江西、四川、BF、NW、Q1426 株系,接种马尾松,每株系接种 15 株松苗,每株苗接种线虫 1 500 条(裂褶菌上培养)。另设 15 株对照。

第四次接种于 1992 年 7 月,在北京中国林科院林研所苗圃进行。使用松材线虫南黑、南马、山东、广东、S-6、STJ、BxBC 株系,拟松材线虫江西、四川、BF 株系,接种黑松、华山松、油松。每株系在每种树上接种 8~10 株苗,每株接种线虫 2 000 条(裂褶菌上培养)。每种树设 8~10 株对照。

接种后,定期观察苗木发病情况。死亡苗木均及时用漏斗法分离线虫。无线虫者不计入死亡苗数。

2 结果

(1)松材线虫不同株系的致病力均明显高于拟松材线虫。在最感病的黑松上,多数松材线虫株系可使黑松死亡率达 100%,而拟松材线虫最高只有 40%。在华山松、油松、樟子松等树种上也是如此。这一结果同以前的报道一致^[7,8]。详细结果见表 1。

(2)同一线虫种内的不同株系存在致病力的差异。从 14 个不同线虫株系致病力的总体水平看,大体有高、中、低三种类型,每一类中不同株系的致病力相对接近。国内的普遍高于国外的,属于高致病力类型。国外的属中等致病力类型。拟松材线虫只有个别株系在个别松树上造成 40%寄主死亡,极个别的达 50%,多数不能致病,或只能造成 10%~20%的寄主死亡,属于低致病力类型。

(3)对每个线虫株系,随寄主不同,寄主死亡率也随之发生不同程度的变化。这在松材线虫的不同株系上尤为明显。南黑株系接种黑松、油松和马尾松后,寄主死亡率分别为 100%、70%和 0。拟松材线虫由于是低致病力类型,寄主死亡率多数在 0 或 10%~20%之间。

表 1 不同线虫株系接种不同松树树种后松树死亡率

(单位:%)

接种年份,地点	供试树种	南黑	南马	南火	广东	山东	STJ	STW	BxBC	S-6	江西	四川	NW	Q1426	BF	对照
1990,中国林科院	华山松	100	100	100	—	—	80	60	100	0	—	—	10	11	40	0
	樟子松	100	100	88	—	—	63	38	43	50	—	—	25	25	13	0
	欧洲赤松	50	50	75	—	—	13	13	13	20	—	—	13	13	13	0
	油松	50	80	70	—	—	0	—	10	40	—	—	10	17	40	0
	白皮松	67	100	100	—	—	14	—	0	—	—	—	0	—	—	0
	美国五针松	0	25	25	—	—	14	—	0	—	—	—	0	—	—	0
1990,老山林场	黑松	43	78	80	—	—	17	—	0	—	22	0	14	0	0	0
1991,大岗山	马尾松	0	—	—	7	7	0	—	0	—	0	0	0	0	0	0
1992,中国林科院	黑松	100	100	—	100	100	100	—	60	90	40	30	—	—	30	10 ^①
	华山松	100	100	—	100	100	50	—	20	80	20	20	—	—	50	0
	油松	70	60	—	88	60	0	—	20	0	0	0	—	—	0	0

①10株对照中有1株死亡,但无线虫存在。

(4)随寄主不同,寄主死亡率在不同线虫株系间并不一致。南马株系分别接种樟子松、白皮松、华山松后,死亡率均为100%。南黑株系则分别为100%、67%和100%。

(5)线虫与寄主相互作用的结果不仅表现在寄主的死亡与否,还表现在寄主的死亡速率上。南黑、山东、广东株系在黑松、华山松上可造成寄主全部死亡,但死亡的平均时间分别为57.2、56.6、43.3 d和165.5、176.8、140.6 d。黑松接种南黑株系后,第13天即可观察到发病迹象,第46天出现死苗。而在油松上,第46天才观察到初始症状。第1株死苗则在接种后第215天,相差甚远。广东株系则不然,接种油松后,87.5%的苗木在第46天可观察到初始症状,第69天即出现第1株死苗,平均死亡日期为169.3 d(7株平均),南黑株系则为259 d(7株平均)。结果见表2。

表 2 三种松树接种不同株系线虫后的死亡速度

(1992年7月)

寄主	项目	南黑	南马	广东	山东	S-6	STJ	BxBC
黑松	死亡率(%)	100	100	100	100	90	100	60
	平均死亡天数(d)	57	48	43	57	43	50	50
华山松	死亡率(%)	100	100	100	100	80	50	20
	平均死亡天数(d)	166	161	141	177	140	147	312
油松	死亡率(%)	70	60	87.5	60	0	0	20
	平均死亡天数(d)	259	227	169	225	—	—	225

(6)所测试的8种松树依死亡率及发病率分析,则马尾松最为抗病,黑松、华山松易感病,其它6种松树介于两类之间。马尾松在接种松材线虫和拟松材线虫的10个株系后,仅有广东、山东株系各死苗1株,其余均未发病,显示了高度抗性。

3 讨论

从本项研究看,不论松材线虫和拟松材线虫来自何地,前者致病力较高,后者致病力极低或不致病。尽管同一种线虫不同株系的致病力有差异,但就国内5个松材线虫株系而言,这种差异不明显,均属于高致病力类型。对此,各级森防及检疫部门应有足够的认识。来自法国的

BF 株系,在有的树种上致病力较高。从形态看这个株系雌成虫尾尖突较长,近似于拟松材线虫。但身体各部位的测量值又不尽相同,对此株系应进一步研究。

研究也表明,寄主死亡与否与线虫和寄主的组合直接相关。离开寄主,只谈论线虫的致病力是没有意义的。虽然根据线虫株系在多种寄主上的致病力可估计在其它树种上引起寄主死亡的程度,但并不普遍适用。因为同一线虫株系在一种寄主上可能引起寄主 100%死亡,但在另一寄主上,则可能不致病。因此,在筛选抗病树种或评估新树种的抗病性时,接种线虫实际检测是必要的。

国内外一些研究指出,光强度、温湿度、媒介及寄主本身的生长情况都能在一定程度上影响松材线虫病的进程和树木死亡情况。异地线虫可造成寄主较高死亡率,本土树种移植异地或从低温区移至较高温区,其感病性也随之变化^[1,9,10]。近年也有研究者认为松树体内的真菌区系与线虫的关系可能影响到病害的发生发展^[11]。在个别树种的抗病性上,国内外不同研究者间的结果也有差异,甚至是相反的结论^[1,2,12,13]。在本项研究中,个别重复试验也因时间、地点等的不同而使两次结果存在一定差异。这一切都充分说明,松材线虫病的病程是一个复杂的过程,多种因素可能在其中发挥着作用。在本试验中,国外松材线虫株系未在马尾松、樟子松等上造成严重危害,国内株系也未在欧洲赤松、美国五针松上引起高死亡率。拟松材线虫不致病或致病低,但在第 4 次接种试验中,江西和四川株系在黑松上的致死率达 40%和 30%,同时对照也死亡 1 株。就有可能因这些黑松苗是初春移植,未经过夏,与其生长情况有关。作者在调查采样时发现,大约有 20%~30%左右的病区死树上并未能分离出松材线虫。再看广东株系,在黑松、华山松和油松等上引起的寄主死亡率同南黑等国内株系并无明显差异,在马尾松苗上也只出现 1 株死苗。用南马株系在南京接种马尾松幼树也未发病。但病区确有马尾松死亡,且能分离出线虫。这表明,广东和南京地区马尾松的死亡必有其它重要因素在起作用。有报道称^[1],广东马尾松遭受松突圆蚧、天牛等害虫严重危害,在对一些松材线虫病死树剖析时,发现干部害虫上百条,便是一个佐证。关于这一点,将另撰文探讨。

值得注意的一点是南马、广东株系致病力。前者从南京地区马尾松上收集,而南京最先是在黑松上发现线虫,近年才有马尾松死亡现象。广东株系的原寄主也是马尾松。从表 2 中可看出,在寄主死亡率相同或相近的情况下,这两个株系接种后,寄主的死亡速度要略高于南黑等株系。1991~1992 年在南京用南黑、南马株系接种黑松幼树的结果也证实了这一点^[2]。因此,南马、广东株系的致病力在自然条件下的演化及对病害流行扩散产生的影响值得进一步研究、监测。今后在对疫区的监测调查中,对疫区不同地点、条件下的线虫作广泛调查,及时掌握线虫株系致病力的变化是十分必要的。

参 考 文 献

- 1 杨宝君,胡凯基,王秋丽,等. 松树对松材线虫抗性的研究. 林业科学研究,1993,6(3):249~255.
- 2 汪企明,吴礼才,杨宝君,等. 马尾松抗松材线虫的再验证及黑松感病进程. 森林病虫通讯,1992,(4):4~6.
- 3 Kiyohara T, Bolla R I. Pathogenic variability among populations of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Forest Science, 1990, 36(4):1061~1076.
- 4 Wingfield M J, Blanchette A, Kondo E. Comparison of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* from pine and balsam fir. European J. For. Pathol., 1983, 13(5/6):360~373.
- 5 Bolla R I, Kozłowski P, Fitzsimmons K. Carbohydrate catabolism in populations of *Bursaphelenchus xylophilus* and in *B. mucronatus*. J. Nematol. 1988, 20(2):252~259.
- 6 Bolla R T, Weaver C, Kosłowski P, et al. Characterization of a nonparasitic isolate of *Bursaphelenchus xylophilus*. J.

- Nematol., 1987, 19(3): 304~310.
- 7 杨宝君, 王秋丽, 邹卫东, 等. 关于尖尾伞滑刃线虫对松树致病性的研究. 林业科技通讯, 1988, (1): 21~23.
 - 8 Schauer-Blume M. Preliminary investigations on pathogenicity of European *Bursaphelenchus* species in comparison to *B. xylophilus* from Japan. Revue de Nematologie, 1990, 13(2): 191~195.
 - 9 Rutherford T A, Webster J M. Distribution of pinewood nematode with respect to temperature in North America. Japan and Europe. Can. J. For. Res., 1987, 17: 1050~1059.
 - 10 Suzuki K. General effect of water stress on the development of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Bull. Forestry and Forest Prod. Res. Inst., 1984, (325): 97~126.
 - 11 二井一禎. [松くい虫問題はどこまご解明されたか](2)材線虫病に見る寄主寄生者関係, 森林防疫, 1990. 39(6): 8~11.
 - 12 Mamiya Y. Pathology of the pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Ann. Rev. Phytopath., 1983, 21: 201~220.
 - 13 周国梁, 程瑚瑞. 马尾松(*Pinus massoniana*)感染松材线虫(*Bursaphelenchus xylophilus*)的研究. 植物病理学报, 1993, 23(1): 81~84.

Pathogenic Comparison among 14 Isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* Collected from Different Regions and Countries

Hu Kaiji Wang Qiuli Yang Baojun

Abstract From 1990~1993, the virulence of 9 isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* from Japan (S-6), Canada (STJ, STW, BxBC) and China and 5 isolates of *B. mucronatus* from France (Bspfrance), Canada (Q1426), Norway (Norway) and China was tested. Each isolate was inoculated (1 500~2 000 nematodes/per seedling) on 3~6-yr-old seedlings of 8 pine species through cutting the bark of the stem. As a result, the virulence of *B. xylophilus* isolates is significantly higher than that of *B. mucronatus* wherever they are from. For each isolate inoculated, the graph of host mortality of 8 pine species is different even within the same nematode species. The most virulent *B. xylophilus* among them, are 5 isolates from China. Isolates from Japan and Canada are moderate while isolates of *B. mucronatus* are less virulent or avirulent. The result of disease development is related not only to mortality but to mean death speed (MDS). The MDS is different for different host pines inoculated with the same isolate and is different for the same pine species inoculated with different isolates as well. Two isolates from China (both from *Pinus massoniana* in Nanjing and Shenzhen Cities) have a somewhat higher MDS than other isolates. *P. massoniana* is the most resistant pine after inoculation while *P. thunbergii* and *P. armandi* are the most susceptible. The relationship among host, nematode and other factors is also discussed.

Key words *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus*, pathogenicity

Hu Kaiji, Assistant Professor, Wang Qiuli, Yang Baojun (The Research Institute of Forest Protection, CAF Beijing 100091).