

文章编号: 1001-1498(2006)04-0537-04

松材线虫入侵的黑松内栖真菌区系初步研究

曾凡勇^{1,2}, 骆有庆¹, 吕全², 梁军², 郝俊^{2,3}, 张星耀^{2*}

(1. 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083;

2. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林保护学重点实验室, 北京 100091;

3. 内蒙古阿拉善盟森林病虫害防治站, 内蒙古 巴音浩特 750306)

关键词: 松材线虫病; 松材线虫; 黑松; 内栖真菌区系

中图分类号: S718.81

文献标识码: A

Studies on the Mycoflora of *Pinus thunbergii* Infected by *Bursaphelenchus xylophilus*

ZENG Fan-yong^{1,2}, LUO You-qing¹, LU Quan², LIANG Jun², HAO Jun^{2,3}, ZHANG Xing-yao²

(1. The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Key Laboratory of Forestry Protection, State Forestry Administration, Beijing 100091, China;

3. Forest Disease and Pest Control Station of Alashanmeng, Bayinhuote 750306, Inner Mongolia, China)

Abstract: 44 isolates of fungi were isolated from the xylem of the *Pinus thunbergii* samples (healthy stem, weak stem and withered stem) infected by the pine wilt disease caused by pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, from infected trees at Zhoushan and Pinghu of Zhejiang Province in China, and these isolates were identified as: *Trichodema* spp., *Penicillium* spp., *Pestalotia* spp. These identified isolates took 70.62% of total isolates of the fungi. Among the 12 isolates unidentified, one sporiferous fungus was found, the other 11 isolates were nonsporiferous. *Trichodema* spp. was the dominant fungus in *P. thunbergii*, the total rate was 53.34%, followed by *Penicillium* spp., 18.89%.

Key words: pine wilt disease caused by pine wood nematode; *Bursaphelenchus xylophilus*; *pinus thunbergii*; mycoflora

松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) Nickle) 是毁灭性森林病害——松材线虫病的病原物, 主要危害针叶树种, 尤其是松属 (*Pinus* spp.) 树种^[1]。黑松 (*Pinus thunbergii* Parl.) 原产日本及朝鲜半岛东部沿海地区, 因其耐海雾、抗海风、可在海滩上生长等特性, 在我国辽宁、山东、河北、江苏、安徽、浙江、福建、湖北、广东等省大量栽植, 总面积约 159 300 hm²^[2]。研究证明^[3,4], 黑松是松材线虫病的高度感病树种, 一旦松材线虫入侵, 后果是毁灭性的, 将给森林造成严重的、不可挽回的损失。

松材线虫入侵后, 寄主黑松内栖真菌及其作用, 国外特别是日本学者作了大量的研究。Kuroda 和 Ito 研究了松材线虫侵入黑松的消长动态和病害发展过程中一些微生物的活性变化后, 认为病害的发生可能与真菌无关^[5]。Noritoshi Maehara 和 Kazuyoshi Futai 研究认为, 病死木中优势真菌的种类可以决定天牛从病死木中羽化时所携带线虫的数量^[6]; 2002 年他们所作的另一项研究显示, 松褐天牛 (*Monochamus alternatus* Hope) 蛹室周围有很多蓝变菌, 这些真菌能增大松材线虫的种群数量^[7]。国内

收稿日期: 2005-12-28

基金项目: “937 国家重点基础项目 (课题编号: 2002CB111404)

作者简介: 曾凡勇 (1977—), 男, 四川广汉人, 在读硕士生。

* 通讯作者: 张星耀 (1957—), 男, 研究员, 博士生导师, 首批新世纪“百千万人才工程”国家级人选。

有关黑松内栖真菌及其作用的研究至今还未见报道。张建平^[8,9]对受松材线虫病危害的马尾松 (*P. massoniana* Lamb) 病死木进行真菌分离,并用这些真菌繁殖松材线虫,发现松材线虫可以在无孢菌和待鉴定的 3 株有孢菌上大量繁殖;在曲霉 (*Aspergillus* spp.)、青霉 (*Penicillium* spp.)、短梗单孢霉 (*Dicoccum* sp.)、头孢霉 (*Cephalosporium* sp.) 的所有菌落以及木霉 (*Trichodema* spp.)、轮枝霉 (*Verticillium* spp.) 的部分菌株的菌落上不能大量繁殖。

本研究选择受松材线虫病危害的黑松为研究对象,以黑松内栖真菌区系的变化为切入点,比较在不同健康状况下黑松真菌种类、数量的差异以及变化规律,为研究松材线虫种群形成机制提供一定的理论依据,同时对松材线虫病的生物防治具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

2004 年 9 月,在浙江省舟山市普陀区和平湖市乍浦林场松材线虫病疫点采集黑松健康木、衰弱木和病死木样品各 6 株,计 18 株;供试黑松为 30~35 年生,胸径 15~35 cm。

1.2 方法

样品采集方法:胸高处 (1.3 m) 去掉树皮向内 1 cm 以上,取约 2 cm 厚的木片^[10]。

真菌分离方法:采用组织分离方法,每个样品取木质部组织 (约 0.4 cm³) 各 30 块,用 0.1% 升汞溶液消毒 3~5 min,无菌水清洗 3~5 次,置于带有 PDA 培养基的培养皿上,每皿 5 块,共 6 个重复,25 培养,待长出菌落后纯化,观察各菌株的菌落形态、产孢特性等并作鉴定。

真菌检出率 = 菌落数 / 组织块数 × 100%

单位样品菌株数 = 菌株数 / 样品数

2 结果及分析

2.1 健康木内栖真菌区系组成

对 6 个健康木样品进行真菌分离,得到菌落 35 个,菌株 13 株,已鉴定 7 株 13 个菌落,分属于木霉 (*Trichodema*)、青霉 (*Penicillium*) 和盘多毛孢 (*Pestalotia*) 3 个属;6 株 22 个菌落未作鉴定。

表 1 表明,健康木中共有木霉、青霉、盘多毛孢以及 3 种待定真菌等共计 6 个种群的真菌;盘多毛孢、待定菌 2 和待定菌 3 等 3 类真菌检出率较高。

表 1 健康木真菌区系及检出率

中文名	拉丁名	菌株数 / 株	检出率 / %
木霉	<i>Trichodema</i> sp.	1	0.56
青霉	<i>Penicillium</i> spp.	3	2.78
盘多毛孢	<i>Pestalotia</i> spp.	3	3.89
待定菌 1		1	1.67
待定菌 2		3	5.00
待定菌 3		2	5.56

2.2 衰弱木内栖真菌区系组成

对 6 个衰弱木样品进行真菌分离,得到菌落 57 个,菌株 16 株,已鉴定 12 株 46 个菌落,分属于木霉和青霉 2 个属;4 株 11 个菌落未作鉴定。

表 2 表明,衰弱木中真菌为木霉、青霉和 2 种待定菌;木霉和青霉增多,并成为优势种群。

表 2 衰弱木真菌区系及检出率

中文名	拉丁名	菌株数 / 株	检出率 / %
木霉	<i>Trichodema</i> spp.	6	11.11
青霉	<i>Penicillium</i> spp.	6	14.44
待定菌 1		2	2.78
待定菌 2		2	3.33

2.3 病死木内栖真菌区系组成

对 6 个病死木样品进行真菌分离,得到菌落 102 个,菌株 15 株,已鉴定 13 株 78 个菌落,分属于木霉和青霉 2 个属;2 株 24 个菌落未作鉴定。

表 3 表明,病死木中真菌为木霉、青霉和 2 种待定菌;木霉占据了其它真菌的生态位,成为优势种群。

表 3 病死木真菌区系及检出率

中文名	拉丁名	菌株数 / 株	检出率 / %
木霉	<i>Trichodema</i> spp.	12	41.67
青霉	<i>Penicillium</i> spp.	1	1.67
待定菌 4		1	2.78
待定菌 5		1	10.56

2.4 不同健康状态下单位样品菌株数及真菌检出率比较

从表 4 可以看出,不同健康状态下单位样品菌株数衰弱木 (2.67) > 病死木 (2.5) > 健康木 (2.17),对原始数据进行方差分析表明, $F = 1.717 < F_{(0.05)} = 3.682$,说明不同健康状态下单位样品菌株数差异不显著;不同健康状态下真菌检出率病死木 (0.57) > 衰弱木 (0.32) > 健康木 (0.19),对原始数据进行方差分析表明, $F = 6.05 > F_{(0.05)} = 5.143$,说明不同健康状态下真菌检出率差异显著。以上数据表明,在不同健康状态下,黑松单位样品菌株数差

异不显著,但真菌检出率差异显著,即随着寄主松树的死亡,真菌的检出率越来越大,也就是寄主黑松木质部中的真菌数量越来越多。

表 4 不同健康状态下单位样品菌株数及真菌检出率

健康状态	单位样品菌株数 / 株	真菌检出率 / %
健康木	2.17	19.46
衰弱木	2.67	31.66
病死木	2.5	56.68

2.5 真菌种类及数量比较

图 1 表明,松材线虫入侵前后,寄主黑松内栖真菌的种类有木霉、青霉、盘多毛孢、待定菌 1、待定菌 2、待定菌 3、待定菌 4 及待定菌 5 共 8 个种群的真菌;木霉和青霉是优势种群,特别是木霉,不论从菌株数或菌落数来看,都具有明显的优势。

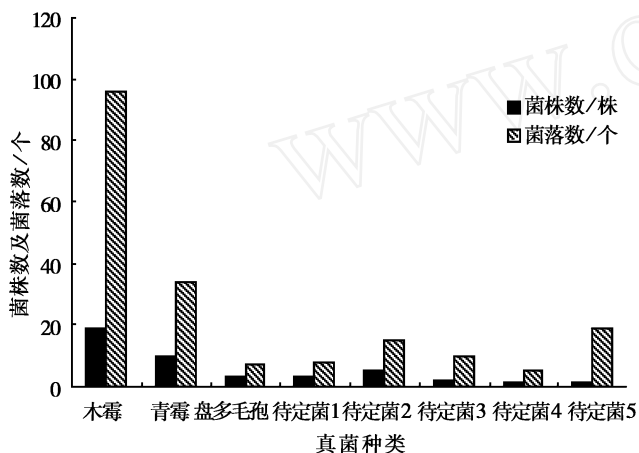


图 1 内栖真菌种类及数量比较

以上研究表明,在受松材线虫病危害的黑松木质部中,不同健康状态下真菌种群没有明显差异;木霉和青霉是始终存在的两类真菌,只是在不同的健康状态下各自的检出率有所不同:青霉在衰弱木中检出率最大,其次是健康木,在病死木中最小;木霉随着寄主松树的死亡,检出率越来越大,这可能与木霉生长迅速,菌丝发达,占据了其它真菌的生态位有关。

3 结论及讨论

本研究选取受松材线虫病危害的黑松健康木、衰弱木及病死木为研究对象,取其木质部组织进行真菌分离,得到包括木霉、青霉以及盘多毛孢在内的 8 类真菌。从分离结果来看,不同健康状态下真菌种群差异不显著,只是优势真菌及其比率不同:健康木中真菌有木霉、青霉、盘多毛孢以及 3 种待定菌,

盘多毛孢、待定菌 2 和待定菌 3 检出率较高;衰弱木中真菌种群比健康木少,为木霉、青霉和 2 种待定菌,木霉和青霉开始增多,并成为优势真菌;病死木中真菌为木霉、青霉和 2 种待定菌,木霉占据了其它真菌的生态位,成为优势种群。

本研究从健康黑松木质部中分离到木霉、青霉、盘多毛孢以及 3 种待定菌等共计 6 类真菌,但张建平等^[17]研究健康马尾松后认为其木质部中没有真菌,这到底是树种差异还是地域差异,还有待于更进一步的研究。

对以上结果进行分析,作者认为,健康木中真菌的检出率很低,说明寄主木质部中真菌的基数不高,松材线虫侵入黑松后只能以寄主薄壁细胞或树脂道细胞为食^[11];病死木中真菌数量较多,检出率较大,为松材线虫的繁殖提供食料,增大其数量,使其种群得以维持、扩大^[12];而衰弱木中真菌种类及检出率均较低,与国外学者^[13,14]的研究结果(真菌种类及数量极为丰富)存在一定的差异,分析原因,作者认为可能与样品采集时间不同,抑或存在地域差异有关。

对于寄主松树内栖真菌在病害的发生、发展过程中的作用,目前还没有统一的观点。通过本研究发现,不管是在病害发生前的健康木阶段,还是病害发生后的病死木阶段,寄主木质部内始终存在着一定数量的真菌,并且随着病害的发展,真菌的数量越来越多,即真菌的检出率越来越大。这进一步证实了前人的研究:病害发生初期真菌检出率较低时松材线虫以寄主薄壁细胞或树脂道细胞为食,后期真菌检出率较大时以寄主内栖真菌为食,增大其数量,扩大其种群,为羽化的松褐天牛成虫提供大量的接种体以完成下一个侵染循环^[15,16]。

参考文献:

- [1] 万方浩,郑小波,郭建英. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制[M]. 北京:科学出版社, 2005: 573 ~ 602
- [2] 中国森林编辑委员会. 中国森林(第 2 卷 针叶林)[M]. 北京:中国林业出版社, 1999: 996
- [3] 杨宝君,刘伟,徐福元,等. 松材线虫病早期诊断的研究——松树品种、接种量及线虫来源对流胶法的影响[J]. 林业科学研究, 1999, 12(3): 251 ~ 255
- [4] 徐福元,葛明宏,朱正昌,等. 南京地区不同松种和马尾松种源对松材线虫病的抗性及其病害流行规律[J]. 林业科学研究, 1996, 9(5): 521 ~ 52
- [5] Kuroda K, Ito. Migration speed of pine wood nematodes and activities of other microbes during the development of pine wilt disease in

- Pinus thunbergii*[J]. Journal of Japan Forest Society, 1992, 74: 383 ~ 389
- [6] Noritoshi Maehara, Kazuyoshi Futai Factors affecting both the numbers of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), carried by the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) and the nematode's life history[J]. Appl Entomol Zool, 1996, 31 (3): 443 ~ 452
- [7] Noritoshi Maehara, Kazuyoshi Futai Factors affecting the numbers of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) carried by several species of beetles[J]. Nematology, 2002, 4 (5): 653 ~ 658
- [8] 张建平, 赵博光. 木腐菌及病死木中的真菌对松材线虫的影响[J]. 福建林学院学报, 2003, 23 (3): 245 ~ 248
- [9] 张建平, 赵博光, 谢立群. 松材线虫病死木中真菌和细菌的分离[J]. 南京林业大学学报 (自然科学版): 2004, 28 (2): 87 ~ 89
- [10] 王国明, 叶志军. 松材线虫在致病松树上的分布与采样的关系[J]. 浙江林业科技, 1998, 18 (6): 37 ~ 41
- [11] Tamura H, Mamiya Y. Reproduction of *Bursaphelenchus lignicolus* on pine callus tissues[J]. Nematologica, 1979, 25: 149 ~ 151
- [12] Fukushige H. Propagation of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) on fungi growing in pine-shoot segments [J]. Appl Ent Zool, 1991, 26 (3): 371 ~ 376
- [13] Kobayashi T, Sasaki K, Mamiya Y. Fungi associated with *Bursaphelenchus lignicolus*, the pine wood nematode () [J]. Jpn For Soc, 1974, 56: 136 ~ 145
- [14] Kobayashi T, Sasaki K, Mamiya Y. Fungi associated with *Bursaphelenchus lignicolus*, the pine wood nematode () [J]. Jpn For Soc, 1975, 57: 184 ~ 193
- [15] Mamiya Y, Enda N. Transmission of *Bursaphelenchus lignicolus* (Nematoda: Aphelenchoidae) by *Monochamus alternatus* (coleopteran: cerambycidae) [J]. Nematologica, 1972, 18: 159 ~ 162
- [16] Wingfield M. J. Transmission of pinewood nematode to cut timber and girdled trees[J]. Plant Disease, 1983, 67: 35 ~ 37