

松树落枝病的室内抑菌试验

陈 婕¹, 张 灿¹, 孟令辉²

(1. 保定职业技术学院, 河北 保定 071051; 2. 昆明市规划设计研究院, 云南 昆明 650041)

摘 要:针对河北地区普遍出现的松树落枝病,将病枝进行病原分离后让其生长得到病原菌,通过采用木霉菌、化学药剂、银杏枝叶内含物与菌丝接种,测定其对菌丝生长的影响。木霉菌对菌丝生长的抑制作用很强,可抑制病原菌丝的生长,并且能穿透病原菌丝,使其萎缩,从根本上阻止了松树落枝病的发生;用化学药剂多菌灵、杜邦易保、瑞毒霉—锰锌、防病1号、防病2号、可杀得6种药剂,分别用200倍、400倍、800倍不同浓度单独与混合应用,对松树落枝病进行室内药效测定。结果表明:800倍可杀得抑制菌丝生长的能力最强,200倍、400倍、800倍多菌灵,200倍、400倍可杀得,400倍、800倍杜邦易保,200倍、400倍防病1号也有一定的杀菌能力;将药剂混合使用时,混合药剂抑制菌丝生长能力普遍增强,400倍可杀得和400倍多菌灵混合,400倍可杀得和400倍防病2号混合抑制效果异常显著;银杏枝叶内含物对菌丝有明显的抑制作用。

关键词:松树;松树落枝病;病原;菌丝;防治

中图分类号:S 763.712.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)03-0158-04

松树落枝病是河北地区普遍发生的病害,很多松树大面积落枝,类似松树枯枝病的症状。关于松树枯枝病的侵染规律已有很多报道。一般认为松树枯枝病菌是一种弱致病菌,可由气孔侵入针叶或直接侵入正在伸长的嫩梢,也可由伤口侵入^[1]。入侵菌丝快速扩展,很快产生溃疡、流脂等症状。但也有报道外表健康经表面灭菌的梢头和针叶上可以分离到松树枯枝病菌^[2],外表健康的松苗栽种到周围无枯枝病发生的林地上可发生枯枝病,表明松树枯枝病菌侵染到寄主上后,可能以某种方式潜伏在寄主表面,不立即表现症状。Stanosz等通过对 *Pinus resinosa* 和 *P. banksiana* 的幼苗和林地里的表面健康枝的研究,首次提出松树枯枝病菌在表面健康的梢上存在潜伏侵染,潜伏侵染部位为1 a生梢、2 a生梢和2 a生叶。国内没有关于松树枯枝病菌潜伏侵染的研究,仅有报道国槐溃疡病、杉木炭疽病等存在潜伏侵染。针对河北地区普遍出现的松树落枝病,试验将病枝进行病原分离后让其生长得到病原菌,通过采用木霉菌、化学药剂、银杏枝叶内含物与菌丝接种,来测定其对菌丝生长的影响。木霉菌对菌丝生长的抑制作用很强,可抑制病原菌丝的生长,并且能穿透病原菌丝,使其萎缩,从根本上阻止了松树落枝病的发生;用化学药剂多菌灵、杜邦易保、瑞毒霉—锰锌、防病1号、防病2号、可杀得6种药剂,分别用200、400、800倍不同浓度单独与混合应用,

对松树落枝病进行室内药效测定。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种准备 将松树病枝洗净泡在蒸馏水中,用剪刀剪下病原部分,放入已倒入马铃薯培养基的培养皿中,置入温箱内培养。待病原生长3~5 d后,得到人工分离培养长出的松树落枝病病原菌,用消毒过的小刀取小块病组织,经过表面消毒和灭菌水洗过2次以后,放在培养皿里的1滴灭菌水中,用灭菌玻棒研碎。再加入少许灭菌水,搅拌均匀,配成菌液,进行接种试验。

1.1.2 培养基和药品 PDA培养基,70%可湿性粉剂可杀得,50%可湿性粉剂多菌灵,58%可湿性粉剂瑞毒霉—锰锌,68.75%水分散性粉剂杜邦易保,防病1号,防病2号。

1.1.3 仪器设备 人工气候箱,培养皿,高压灭菌锅,超净工作台等。

1.1.4 其它材料 木霉菌,银杏1~2 a生叶、枝等。

1.2 试验方法

1.2.1 化学药剂抑菌实验 采用抑菌圈法。所用药剂按下述浓度配制:药剂单用:70%可杀得可湿性粉剂200、400、800倍,50%多菌灵可湿性粉剂200、400、800倍,58%瑞毒霉—锰锌可湿性粉剂200、400、800倍,68.75%杜邦易保水分散性粉剂200、400、800倍,防病1号200、400、800倍,防病2号200、400、800倍。药剂混用:400倍可杀得和400倍多菌灵混合,400倍可杀得和400倍防病2号混合,200倍多菌灵和200倍防病2号混合,800倍瑞毒霉—锰锌和800倍可杀得混合。试验前

第一作者简介:陈婕(1982-),女,河北保定市人,学士,助教,现研究方向为园林设计。

收稿日期:2009-11-06

将所需数量的培养皿洗净晾干并用烘箱高温消毒 1 h; 用打孔器把滤纸打出小圆纸片, 和培养皿一起高温消毒; 接种试验在超净工作台上进行, 接种前先要用紫外灯消毒 20 min, 开始接种。接种时用滴管吸取少量菌液滴入培养皿中, 再在培养皿中倒入融化的马铃薯培养基, 盖好在工作台上摇晃均匀, 放置一旁, 待其凝固。将滤纸片浸入各种药剂溶液中, 充分浸透。待培养基凝固后取 3 个小圆纸片成等边三角形放置在每个培养皿中, 做好标签。置于 25℃ 培养箱中培养, 每处理重复 3 次, 以清水作对照。5 d 后用尺测量抑菌圈的直径。抑菌率的计算方法如下: 抑菌率 = (对照半径 - 病原菌落半径) / 对照半径 × 100%。

1.2.2 银杏枝、叶内含物抑菌试验 取银杏叶鲜重 200 g, 剪碎放到 100 mL 蒸馏水中, 煮沸 30 min, 高压消毒, 配成银杏液, 抑菌试验仍采用上述相同的抑菌圈法, 重复 3 次, 清水做对照。5 d 后用尺测量抑菌圈的直径。

1.2.3 对峙试验 挑取 0.5 cm² 的木霉菌和松树落叶病菌菌块同时接种在同一培养皿内, 2 菌块相距 6 cm, 同时设只接种病原菌的为对照, 每处理重复 3 次。置于 25℃ 的恒温箱中培养, 并逐日观察。测量木霉菌的菌落指向病原菌菌落半径和病原菌菌落指向木霉菌菌落的半径, 以及对照的病原菌菌落半径。当 2 菌落交接后, 在交接部位或病原菌菌落内部挑菌丝在显微镜下观察二者的相互作用。

2 结果与分析

2.1 木霉菌对菌丝生长的影响

由表 1 可知, 木霉菌对病原菌有一定的抑制作用。大约 3 d 木霉菌与病原菌开始接触, 到第 4 天, 木霉菌开始包围或覆盖病原菌, 使其表面积不再向木霉菌方向扩展。而木霉菌进一步扩展侵入病原菌菌落。最终使病原菌菌落萎缩, 整个培养皿都被木霉菌覆盖, 形成大量绿色分生孢子^[5]。在 2 个菌落交接部位挑取菌丝在显微镜下观察, 可以看到木霉菌穿透病原菌丝生长, 使之萎缩。与对照相比, 病原菌菌落半径要小的多, 并且与木霉菌接触后不再生长^[6]。

表 1 木霉菌对菌丝生长影响的测定				
培养 天数/d	木霉菌落 半径/mm	病原菌落 半径/mm	对照 半径/mm	抑菌率 /%
1	5	4	6	33
2	10	14	15	10
3	22	20	25	20
4	38	22	40	45

2.2 化学药剂对菌丝生长的影响

2.2.1 单一药剂对菌丝生长的影响 单一药剂为 200、400、800 倍可杀得, 200、400、800 倍多菌灵, 200、400、800 倍瑞毒霉—锰锌, 200、400、800 倍杜邦易保, 200、400、800 倍防病 1 号, 200、400、800 倍防病 2 号。结果表明:

单一药剂对菌丝生长影响并不明显。其中, 200、400、800 倍瑞毒霉—锰锌, 200、400、800 倍防病 2 号基本对菌丝生长没有影响, 仅为 2%、4%、2% 及 7%、4%、7%; 800 倍可杀得抑制效果最明显, 抑菌率达 46%; 此外, 200、400、800 倍多菌灵, 200、400 倍可杀得, 400、800 倍杜邦易保, 200、400 倍防病 1 号的抑菌率均在 10% 以上, 对菌丝生长能起到一定程度的抑制作用。分析杜邦易保 800、杜邦易保 400、多菌灵 200、防病 1 号 200、可杀得 400、防病 1 号 400、可杀得 200、杜邦易保 200 之间药效差异不显著; 防病 2 号 200、防病 2 号 400、防病 1 号 800、防病 2 号 800、瑞毒霉—锰锌 400 之间药效差异不显著; 瑞毒霉—锰锌 200、瑞毒霉—锰锌 800 之间药效差异不显著。可杀得 800 和多菌灵 800 药效差异显著; 多菌灵 800 和多菌灵 400 药效差异显著; 多菌灵 400 和杜邦易保 800、杜邦易保 400、多菌灵 200、防病 1 号 200、可杀得 400、防病 1 号 400、可杀得 200、杜邦易保 200 之间药效差异显著; 杜邦易保 800、杜邦易保 400、多菌灵 200、防病 1 号 200、可杀得 400、防病 1 号 400、可杀得 200、杜邦易保 200 和防病 2 号 200、防病 2 号 400、防病 1 号 800、防病 2 号 800、瑞毒霉—锰锌 400 之间药效差异显著; 防病 2 号 200、防病 2 号 400、防病 1 号 800、防病 2 号 800、瑞毒霉—锰锌 400 和瑞毒霉—锰锌 200、瑞毒霉—锰锌 800 之间药效差异显著。

表 2 单一药剂对菌丝生长的影响

药剂名称	浓度/倍	抑菌圈直径/mm	抑菌率/%
多菌灵	200	12	13
	400	16	18
	800	20	22
瑞毒霉—锰锌	200	2	2
	400	4	4
	800	2	2
可杀得	200	9	10
	400	10	11
	800	41	46
杜邦易保	200	8	8
	400	12	13
	800	15	17
防病 1 号	200	12	13
	400	10	11
	800	5	5
防病 2 号	200	6	7
	400	4	4
	800	6	7
对照		0	0

2.2.2 混合药剂对菌丝生长的影响 混合药剂的试验为 400 倍可杀得和 400 倍多菌灵混合, 400 倍可杀得和 400 倍防病 2 号混合, 200 倍多菌灵和 200 倍防病 2 号混合, 800 倍瑞毒霉—锰锌和 800 倍可杀得混合。结果表明, 药剂混合后能够大大提高对菌丝生长的抑菌率。单独用药抑菌率低的瑞毒霉—锰锌和防病 2 号与其它药

剂混合也能获得很好的抑制菌丝生长的效果。特别是400 倍可杀得和400 倍多菌灵混合,400 倍可杀得和400 倍防病2 号混合,抑菌率达到70%以上,菌丝生长非常微弱。由表分析,混合药剂之间的差异不显著,但是和对照相比差异显著。

表3 单一药剂对菌丝生长影响的方差分析

处理	均值	5%显著水平	1%极显著水平
可杀得 800	41	a	A
多菌灵 800	20	b	B
多菌灵 400	16	bc	BC
杜邦易保 800	15	bcd	BCD
杜邦易保 400	12	bcde	BCD
多菌灵 200	12	bcde	BCD
防病 1 号 200	12	bcde	BCD
可杀得 400	10	cdef	BCD
防病 1 号 400	10	cdef	BCD
可杀得 200	9	cdef	BCD
杜邦易保 200	8	cdef	BCD
防病 2 号 200	6	def	CD
防病 2 号 400	6	def	CD
防病 1 号 800	5	ef	CD
防病 2 号 800	4	ef	CD
瑞毒霉-锰锌 400	4	ef	CD
瑞毒霉-锰锌 200	2	f	D
瑞毒霉-锰锌 800	2	f	D

表4 混合药剂对菌丝生长的影响

浓度/倍	混合药剂	抑菌圈直径/mm	抑菌率/%
400	可杀得	63	70
	多菌灵		
400	可杀得	64	71
	防病 2 号		
200	多菌灵	30	33
	防病 2 号		
800	可杀得	48	53
	瑞毒霉-锰锌		
对照		0	0

表5 混合药剂对菌丝生长影响的方差分析

处理	均值	5%显著水平	1%极显著水平
400 可杀得防病 2 号	64	a	A
400 可杀得多菌灵	63	a	A
800 可杀得 瑞毒霉-锰锌	48	a	A
200 多菌灵 防病 2 号	30	a	A
对照	0	b	B

2.3 银杏枝、叶对菌丝生长影响的测定

从表6 看出,银杏枝的抑菌率高达67%。银杏叶的抑菌率为47%。银杏枝、叶本身都有很高的抗病性。在此试验中,银杏枝的抑菌率高于银杏叶的抑菌率。

表6 银杏枝、叶对菌丝生长的影响

	抑菌圈直径/mm	抑菌率/%
银杏枝	60	67
银杏叶	42	47
对照	0	0

注:试验所用培养皿直径均为90 mm。

3 讨论与结论

松树落枝病是一种为害严重的植物病害,不但影响松树的观赏价值,还破坏了松树的内部组织结构,影响其生长。该试验采用的木霉菌、化学药剂以及银杏都是容易获得的,并且都有一定的抑制作用。

使用药效较高的可杀得、多菌灵、杜邦易保、防病1 号以及400 倍可杀得和400 倍多菌灵混合药剂,400 倍可杀得和400 倍防病2 号的混合药剂抑制松树落枝病原菌菌丝生长的效果很好。

生物防治是当今防治病害的趋势,避免了化学药剂防治在抑制病原菌的同时杀死树体上有益的拮抗微生物,也不会使病原菌产生抗药性^[7]。试验采用了木霉菌。木霉菌是自然界中普遍存在并有丰富资源的拮抗微生物,它具有普遍性、适应性强和多机制性的特点^[8-9]。首先,木霉菌竞争作用强,它能迅速上涨,进行营养和空间位点的竞争。此外还具有重寄生作用,可以从病原菌体内吸取营养物质,削弱病原菌的生长势,甚至杀死病原菌。木霉菌不仅对病原微生物有拮抗作用,而且能直接作用于植物,促进其萌发、生长和开花,且其本身受外界干扰影响小,由此在植物病害生物防治中占有重要地位,具有广阔的应用前景^[10-12]。

银杏来源丰富,很少发生病虫害,不污染环境,含有天然抗病虫的物质。利用银杏内含物进行防治松树落枝病是一种经济环保的方法。利用银杏内含物提取对松树落枝病进行防治是一种经济有效的方法。美国在银杏抗病虫机理方面研究居世界领先地位^[12]。

松树落枝病在河北省分布范围广,为害寄主多,发生为害严重。据目前的资料统计,该病已在我国15 个省份约30 种针叶树上发生,给林业生产造成了较大的损失。我国的松树落枝病菌源自何处,其致病性发生变异的程度如何,与国外类群的亲缘关系怎样,都是值得研究的问题。因此,收集尽可能多的国内外松树落枝病菌菌株,比较其形态学特征、致病性以及基因型的变异,并探求其致病性与寄主和环境条件的相关性,将有助于预测病害可能造成的损失,开展抗病树种选育或采取其它的林业技术措施等,以减轻该病害的发生与为害。

参考文献

[1] Brookhouser L. W. Infection of Austrian Scots and Ponderosa Pines by *Diplodia pines*[J]. *Phytopathology*, 1971, 61: 409-414.
[2] 项存梯, 原树忠, 孟繁荣, 等. 樟子松枯梢病的研究[J]. *东北林学院学报*, 1981(2): 1-9.
[3] 景耀, 张永安. 湿地松枯梢病的研究[J]. *林业科技通讯*, 1986(12): 1-4.
[4] 梁子超, 祁惠芳. 马尾松枯梢病的研究[J]. *植物病理学报*, 1980, 10(2): 119-123.
[5] 沈伯葵, 褚祥如, 张明海, 等. 松梢枯病的发生规律[J]. *林业科学研究*, 1993, 6(2): 157-161.
[6] 吴小芹. 松枯梢病菌侵入途径的超微观察[J]. *森林病虫害通讯*, 1995(3): 1-3.

[7] 彭星元,苏开君,邓群,等. 国外松枯梢病的松色二孢菌 9 个菌株生物学特性的研究[J]. 广西林业科技,1997,13(1):36-40.
 [8] 边银丙,周茂繁. 松色二孢菌 7 个菌株酯酶同工酶的比较研究[J]. 南京林业大学学报,1996,20(2):98-100.
 [9] 吴小芹. 中国松树枯梢病菌群体分化的研究[D]. 南京林业大学博士学位论文,1999.
 [10] 徐同,钟静萍. 木霉对土传病原真菌的拮抗作用[J]. 植物病理学报,

1993,23(1):63-66.
 [11] 项存悌,高克祥,何秉章,等. 杨树烂皮病生物防治研究[J]. 东北林业大学学报,1991,19(6):15-25.
 [12] Inbar J, Abramsky Metal. Plant growth enhance ment and disease control by Trichoderma harzianum in vegetable seedlings grown under commercial conditions[J]. European Journal of Plant Pathology,1994,100:337-346.

The Medicine Curing and Testing of *Cenangium ferruginosum* F r. ex F r.

CHEN Jie¹, ZHANG Can¹, MENG Ling-hui²

(1. Baoding Vocational and Technical College, Baoding, Hebei 071051; 2. Kunming Urban Planing and Design Institute, Kunming, Yunnan 100083)

Abstract: Pine that area appear generally fall pieces of disease to Hebei, carry on etiology let their growth have to go to pathogens after separating disease piece, through adopt wooden mould, chemical drug, ginkgo branch and leaf implicit thing and hypha inoculate, to determine its influence of growing to hypha. The inhibition that the wooden mould grows to the hypha is very strong, can suppress the growth of the pathogenic hypha, and can pierce through the pathogenic hypha, make it shrink, has prevented the pine from leaving the emergence of a disease fundamentally; Large fungus clever, Du Pont is apt to protect, auspicious and poisonous and mould with chemical drug-Manganese zinc, prevent disease 1, prevent disease 2, can kill 6 drug, separately with 200, 400, 800 different densities alone with is it fall to pine pieces of disease carry on room examine to mix, carry on the biological control. While the medicine is prevented and cured, 800 times can be killed so that the ability of suppressing the hypha to grow is strongest, 200 times, 400 times, the clever in fungus in 800 and a half time of, can kill 200 times, 400 times, 400 times, 800 times of Du Pont the easy to be protect, 200 times, 400 times have certain sterilization ability to prevent disease too on the 1st; Is it when using, mix drug drug suppress hypha grow ability to be generally very much better to mix, 400 times can kill and more than 400 fungus not clever to mix, can kill and prevent disease not mixing not it suppresses that result is getting more remarkable unusually until one 400 times; The implicit thing of branch and leaf of ginkgo has obvious inhibition on the hypha.

Key words: pine; fall pieces disease of pine; etiology; hypha; prevention and cure

安全储藏蔬菜种三法

1 堆垛储藏法 留种数量较多的品种可用麻袋包装,按品种堆垛储藏,每堆下面应有垫板,以利通风。堆垛高度一般不宜超过 6 袋,细小种子不宜超过 3 袋,隔一段时间要翻动一下。否则,底层种子易被压伤,降低发芽率。

2 高吊储藏法 如种子带荚或整枝储藏时,要将收获后的蔬菜种子捆扎成把,挂在阴凉通风处,用时采摘脱粒;种子直接储藏时,需晾干透后用纱布缝制的小布袋盛装,并把布袋吊于通风阴凉的屋顶下,这样不仅增强通透性,便于种子呼吸,而且不

易使种子受潮、变质。

3 密封储藏法 对留存的少量种子可放在纸袋或布袋里,然后存于玻璃瓶或塑料桶内。在容器底部要放上生石灰、木炭等干燥剂,上放种子袋,然后加盖密闭,放在阴凉干燥处。