

湿地松枯梢病菌生物学特性的研究

景耀 孙丹萍*

摘要 松色二孢菌 (*Diplodia pinea*) 引起湿地松枯梢病。病菌在 PDA 培养基上生长最好, 最适温度为 25~31℃, 在全光照条件下生长最快, 子实体最早形成。分生孢子在 10% 的湿地松和油松针叶浸汁中萌发最好, 6 h 萌发率达 90% 以上, 萌发的最适温度为 25~30℃; 最适 pH 值为 6~7; 在水滴中比在饱和湿度下萌发率高; 光照对分生孢子萌发几乎无显著影响。

关键词 湿地松、枯梢病、松色二孢菌、生物学特性

湿地松枯梢病 [*Diplodia pinea* (Desm.) Kichx] 是一种世界性的病害。危害多种松树, 严重影响树木正常生长^[1~9]。在国内危害油松 (*Pinus tabulaeformis* Carr.)、马尾松 (*P. massoniana* Lamb.)、樟子松 (*P. sylvestris* L. var. *mongolica* Litv.)、湿地松 (*P. elliotii* Engelm.)、加勒比松 (*P. caribaea* Morelet) 和火炬松 (*P. taeda* L.) 等^[2~4]。陕西省自 1983 年以来主要发生在安康、汉中等地引种的湿地松上, 病梢率可达 40%~62%, 秋后造成大量枯梢^[1]。目前对该病的病原菌形态、病害症状以及发病规律等已有许多研究^[5~9], 但对病原菌生物学特性的研究尚未见有系统的报道, 为此于 1985 年进行了研究, 现总结如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源 1985年4月从安康县林研所苗圃采集的湿地松病枝和病叶中分离获得。供试的分生孢子分别为在湿地松病枝叶上越冬的和在培养基上产生的。

1.1.2 针叶来源 在采集菌种的同时, 采集健康的湿地松、油松、马尾松、火炬松、华山松和云南松的嫩梢及针叶。

1.2 方法

1.2.1 菌种的分离 将带有子实体的越冬病组织, 用 70% 酒精擦洗后, 取病、健交界处组织, 切成小段, 用 0.1% 昇汞液消毒 1~2 min, 再用无菌水冲洗 3 次, 剪成 2 mm × 3 mm 的小块, 置于 PDA 平面培养基上, 每皿 4 块, 在 23℃ 恒温下培养, 待菌落长出后, 转皿纯化备用。

1.2.2 菌落生长量的测定 在直径 90 mm 的培养皿内, 倒入 10 mL 的培养基。在 PDA 培养

1992-06-03收稿。

景耀教授, 孙丹萍(西北林学院 陕西杨陵 712100)。

*孙丹萍系西北林学院森保专业85届毕业生, 现在河南省洛阳林校工作。

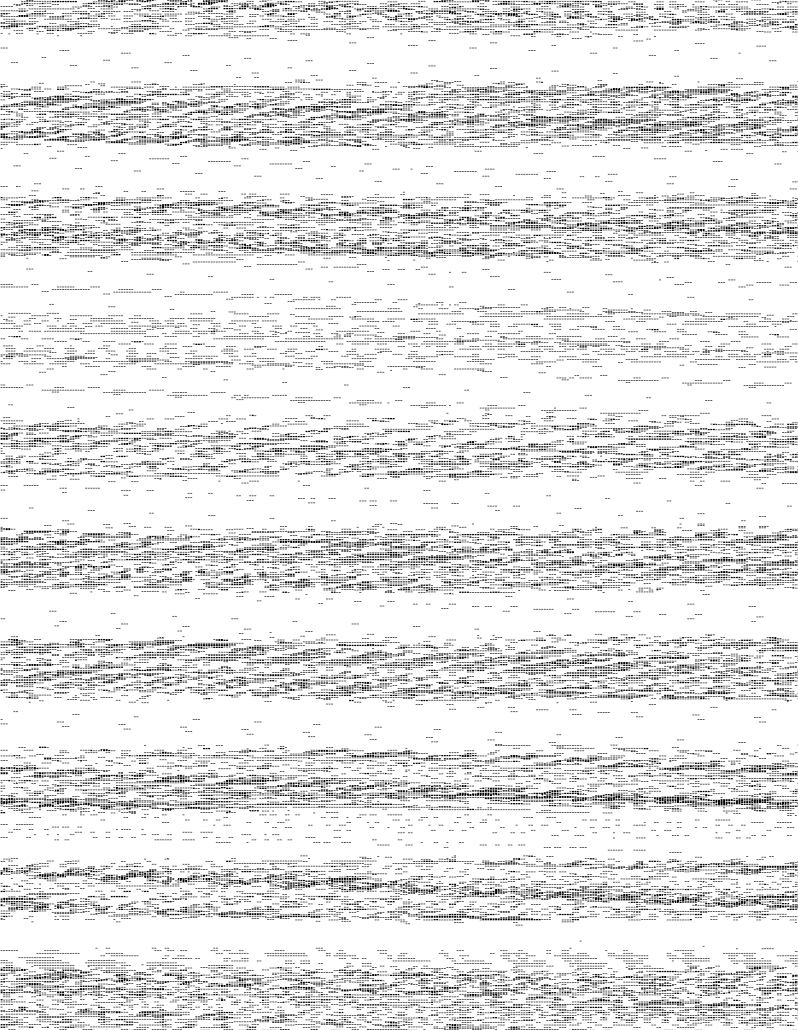


表1 菌落生长与营养的关系

培养基 ^①	生长5d菌落	长满培养皿所	分生孢子器形成	平均生长
	直径(cm)	需时间(d)	所需时间(d)	(cm/d)
蒸馏水+琼脂	2.85	19	20	0.57
葡萄糖+琼脂	4.13	13	20	0.85
蔗糖+琼脂	4.75	9	19	0.95
麦芽糖+琼脂	4.45	13	17	0.89
PDA'	1.72	14	19	0.34
PDA	9.00	5	—	1.80
火炬松针叶浸汁+琼脂	4.35	17	—	0.87
马尾松针叶浸汁+琼脂	4.88	16	—	0.98
油松针叶浸汁+琼脂	3.13	18	—	0.63
华山松针叶浸汁+琼脂	3.45	19	—	0.69
云南松针叶浸汁+琼脂	3.45	18	—	0.69
湿地松针叶浸汁+琼脂	4.69	17	—	0.94
查彼克	8.00	16	13	1.60

① PDA'——PDA培养基中，葡萄糖减半。

2.1.4 菌落生长与光照的关系 在PDA培养基上接种直径为3.5 mm的菌丝块，在22~26℃变温条件下分别进行全光（白天散射光，晚上40W的日光灯）、光暗交替及全黑暗三种处理，每种处理重复3次，每隔24 h测量菌落直径，观察子实体形成情况，结果见表2。可见，在全光照的条件下，菌落生长最快，子实体形成早且多，光、暗交替其次，全黑暗最差。

表2 菌落生长与光照的关系

处 理	菌落直径(cm)					分生孢子器 形成时间(d)	分生孢子 形成时间(d)
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d		
全 光	2.13	4.87	7.22	9.00	9.00	10	20
光、暗交替	1.69	4.23	5.93	7.90	9.00	12	32
全 黑 暗	1.58	3.89	5.77	7.45	9.00	—	—

2.2 孢子萌发试验

2.2.1 分生孢子萌发与时间的关系 用10%湿地松针叶浸汁配成孢子悬浮液，每视野约20个孢子，用悬滴法在25℃下进行孢子萌发试验，每处理重复3次，每隔2 h镜检一次，直到24 h，结果见图3。由图3可知，越冬孢子1 h后开始萌发，2 h萌发率达65.3%，6 h达93.9%，直到8 h后，增长趋势缓慢，纯培养孢子2 h以后才开始萌发，6 h达57.4%，18 h后达到90%，以后增长趋势较为缓慢。

孢子萌发的特性是：先吸水膨胀，后产生芽管。多为单极萌发，少数双极，个别侧面发芽。绝大多数只产生一个芽管，少数产生2~5个芽管，萌发8 h后，孢子产生一个分隔。

2.2.2 分生孢子萌发与温度的关系 用10%湿地松针叶浸汁配成孢子悬浮液，采用悬滴法进行孢子萌发试验，分别置于5、9、15~18（变温）、19~21（变温）、25、30、35、40℃不同温度下，培养6 h，蒸汽杀死(2 min)，镜检。每种处理重复3次。结果见图4。由图4可见越

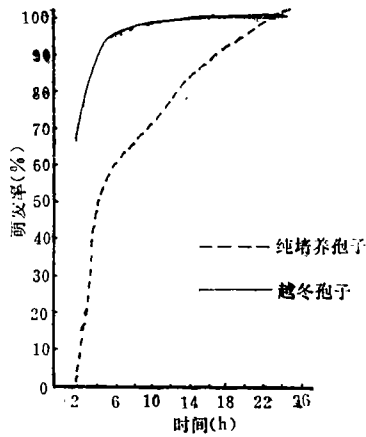


图3 分生孢子萌发与时间的关系

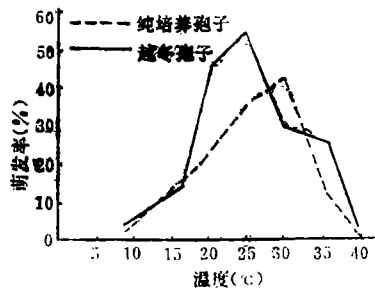


图4 分生孢子萌发与温度的关系

冬孢子萌发的适温范围18~25℃，最适25℃；纯培养孢子萌发的适温范围25~30℃，最适30℃。越冬孢子和纯培养孢子萌发的最低温度为8℃，最高温度为40℃，在8℃以下和40℃以上均不萌发。

2.2.3 分生孢子萌发与湿度的关系 在干燥器内，用不同浓度的硫酸溶液控制不同的相对湿度，将孢子悬浮液用喉头喷雾器喷在载玻片上，阴干后，置于干燥器内，以悬滴作对照，在

表3 分生孢子萌发与湿度的关系

相对湿度(%)	孢子来源	孢子总数(个)	萌发数(个)	萌发率(%)
悬 滴	纯培养	173	102	59.0
	越 冬	389	189	48.6
100	纯培养	184	90	49.0
	越 冬	305	82	26.9
98.5	纯培养	200	75	37.5
	越 冬	300	70	23.3
96.1	纯培养	176	64	36.4
	越 冬	234	33	14.1
92.9	纯培养	181	58	32.0
	越 冬	205	25	12.2
88.5	纯培养	182	58	31.9
	越 冬	232	14	6.0
82.9	纯培养	201	7	3.5
	越 冬	238	14	5.9
75.6	纯培养	212	5	2.4
	越 冬	353	19	5.4
66.8	纯培养	196	2	1.0
	越 冬	185	1	0.5
56.8	纯培养	206	0	0
	越 冬	448	0	0

恒温25℃下，培养6 h，杀死镜检，结果见表3。由表3可以看出，相对湿度在66.8%以上分生孢子才能萌发。在饱和湿度下，孢子萌发率仍比在液滴中低，这说明孢子萌发需要有充足的水分条件。

2.2.4 分生孢子萌发与pH值的关系 以不同比例磷酸盐缓冲液调整用蒸馏水配制的孢子悬浮液酸碱度，使其具有不同的pH值。用25型酸度计测pH值。采用悬滴法，恒温25℃下培养，培养6 h后，杀死镜检，结果如图5。由图5可知分生孢子在pH值4.6~9.0的范围内均可萌发。适宜的范围为pH值6~7，其中，以pH值6.78萌发率最高。

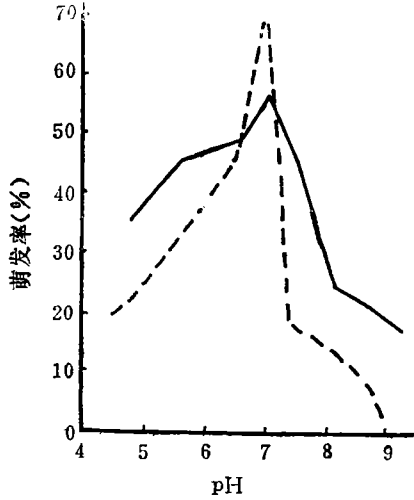


图5 分生孢子萌发与pH值的关系
----纯培养孢子；——越冬孢子

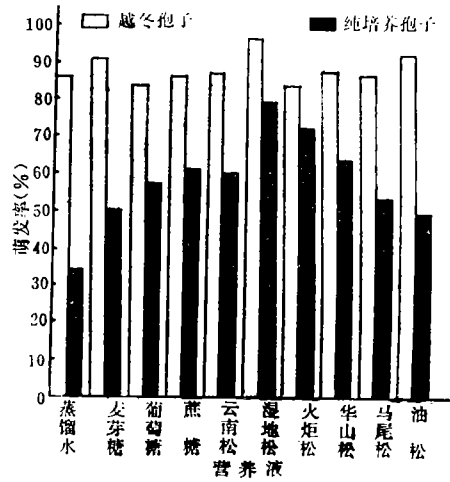


图6 分生孢子萌发与营养的关系

2.2.5 分生孢子萌发与营养的关系 用6种10%的针叶浸汁和3种10%的糖液分别配成孢子悬浮液，采用悬滴法进行孢子萌发，每种处理重复3次，置于25℃恒温箱中，6 h后，杀死镜检，结果见图6。由图6可知，分生孢子在湿地松针叶浸汁中萌发率最高。越冬的分生孢子在10种营养液中，萌发率均在80%以下；纯培养的分生孢子，除在湿地松、火炬松针叶浸汁中，萌发率达70%以上外，在其它营养液中均在60%以下，尤以蒸馏水中为最低。

2.2.6 分生孢子萌发与光照的关系 用10%湿地松针叶浸汁配成孢子悬浮液，采用悬滴法，置于室内变温下，进行全光（散射光）、光暗交替和全黑暗三种处理，每种处理重复3次，待6 h后，杀死镜检，结果见表4。由表4可知，光照对分生孢子的萌发几乎没有显著影响。

表4 分生孢子萌发与光照的关系

处 理	孢子来源	孢子总数(个)	萌发数(个)	萌发率(%)
全 光	纯 培 养	211	108	51.2
	越 冬	325	191	58.8
光暗交替 (每隔1 h)	纯 培 养	209	110	52.6
	越 冬	323	153	47.3
全 黑 暗	纯 培 养	217	100	46.1
	越 冬	336	204	60.7

参 考 文 献

- 1 景耀, 张永安. 湿地松枯梢病的研究. 林业科技通讯, 1986, 199(12): 1~4.
- 2 项存悌, 原树忠, 孟繁荣, 等. 樟子松枯梢病的研究. 东北林学院学报, 1981, (2): 1~9.
- 3 梁子超, 祁惠芳. 马尾松枯梢病的研究. 植物病理学报. 1980, 10(2): 119~123.
- 4 别洞之, 杨么明, 余世明, 等. 火炬松、湿地松枯梢病初步研究. 森林病虫通讯, 1986, (2): 8~10.
- 5 苏开君, 谭松山, 邓群. 国外松枯梢病症状和病原的研究. 森林病虫通讯, 1991, (1): 2~5.
- 6 Walla T A. *Diplodia pinea* found on North Dakota. Plant Dis. Rreptr, 1979, 63(6): 464.
- 7 Peterson G W. Infection, epidemiology and control of *Diplodia* blight of Austrian, Ponderosa and Scots pines. Phytopath., 1977, 67(4): 511~514.
- 8 Chou C K S. A shoot dieback in *Pinus radiata* caused by *Diplodia pinea*. I. Symptoms, disease development and isolation of pathogen. New Zealand Journal of Forestry Science, 1976, 6(1): 72~79.
- 9 Wang C G, Blanchette R A, Jackson W A, et al. Differences in conidial morphology among isolates of *Sphaeropsis sapinea*. Plant disease, 1985, 69(10): 838~841.

Studies on the Biological Characteristics of Pathogen, *Diplodia pinea* of Slash Pine Dieback

Jing Yao Sun Danping

Abstract The pathogenic fungus causing dieback of slash pine is *Diplodia pinea* (Desm.) Kickx. In full light and at 25~31 °C, the fungus grows best on PDA medium, and forms its fructification early. Its conidia germinate best on 10% needle infusion of *Pinus elliottii* and *P. tablaeformis*. Its germination percentage after 6 hours reaches over 90%. Optimum temperature for conidial germination is between 25°C to 30°C, and pH 6~7 the most favorable. Germination percentage in water drops is higher than that under saturated moisture condition. Light has no obvious influence on conidial germinating.

Key words *Pinus elliottii*, dieback, *Diplodia pinea*, biological characteristics

Jing Yao, Professor, Sun Danping (Northwestern College of Forestry Yangling, Shanxi 712100).