林业科学研究 1999, 12(4): 339～345
Forest Research

外生菌根对桉树青枯病的防治效应*

弓明钦 陈 羽 王凤珍 陈应龙
(中国林业科学研究院热带林业研究所, 510520, 广州; 第一作者 60 岁, 男, 研究员)

摘要 应用 8 种外生菌根菌对青枯病菌进行测定的结果表明, 8 个菌株对青枯病菌均有不同程度的抑菌效果; 对桉树菌根化苗木进行截根接种的试验结果表明, 菌根化苗木可降低发病率 40%～72.78%; 菌根化苗在重病区造林, 发病率比未接种苗降低 20%～38.9%; 在新造林地上造林, 发病率仅 8.3%, 比未接种苗降低 11.8%～24.5%。因此, 利用菌根技术, 实行桉树苗木菌根化, 是目前防治桉树青枯病的有效且可行的方法之一。

关键词 桉树; 细菌性青枯病; 外生菌根; 防治效应
分类号 S718.81

桉树青枯病(*Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith)最早发现于我国广西的柳桉(*Eucalyptus saligna* Sm.)和巨桉(*E.grandis* Hill ex Maid.)等幼树上[1], 当时仅零星发生, 面积也不大。之后, 又先后在广东[2]和海南[3]陆续发现, 主要寄主除了上述两种桉树之外, 还有巨尾桉(*E.grandis*×*E.urophylla*)、尾叶桉(*E.urophylla* S.T.Blake)、尾巨桉(*E.urophylla*×*E.grandis*)及柠檬桉(*E.citriodora* Hook f.)等多种桉树, 其中, 以栽培面积最大的巨尾桉和尾叶桉发病最严重。病害在苗圃常造成组培苗及扦插苗的大量死亡, 但实生苗则较少发病; 在田间, 病害常造成 2 年生以下的幼树死亡, 而 2 年生以上幼树一般发病较少。苗圃幼苗发病率一般在 40%～60%, 田间幼树发病率在 10%～40% 之间, 个别严重的地方发病率可达 90%以上, 甚至全林被毁。1997 年, 在过去从未种过速生桉树的粤北地区韶关市, 其苗圃巨尾桉组培苗发病率达 48%～80%, 造成采穗圃中 60 万株组培苗木死亡, 损失巨大。近年来, 随着速生桉树栽培面积的不断扩大, 病害发生面积和分布范围也都逐年增加, 成为广东、广西及海南地区桉树发展的严重障碍, 发病累计面积估计已达 10 万 hm^2, 苗圃幼苗的损失更是无法统计。

利用菌根技术防治某些植物病害的设想, 早在本世纪 40 年代就提出过[4～6], 并先后证实菌根对某些病害的防治效果; 国内也证实菌根对苗木猝倒病也有较好的防治作用[7～8], 因此, 有学者早就建议将外生菌根作为植物病害生物防治的一种措施[9]。

Halosc(引自刘润进)[10]和 Fadjar[11]利用 VA 菌根防治蕃茄细菌性青枯病(*P.solanacearum* E.F.Smith), 也取得较好的防治效果, 但尚未见利用菌根技术防治树木青枯病的例子。近年来, 在广东、海南省的多个市县, 先后营造了桉树菌根试验林和示范林约 60 hm^2, 在调查中注意到, 苗期接种过菌根的幼林很少发生青枯病, 而在相同条件下的未接种幼树则往往发病较多, 不仅如此, 接种菌根菌的幼树其生长远比未接种的苗为好。因此, 能否利用外生菌

* 本研究为中澳合作 9425 项目(1996～1998 年)、中国林科院基金项目(1994～1996 年)和广东省自然科学基金项目(1998～1999 年)资助的部分内容; 新加坡亚洲浆纸业股份有限公司也对本研究给予大力支持和赞助, 高要市林业局、开平市镇海林场给予工作的大力支持, 谨致谢意。
1998-04-13 收稿。

根来防治桉树青枯病, 就成为菌根应用研究中的新课题。本文是近年有关研究的部分结果。

1 材料及方法

1.1 供试材料

供试菌根菌种: 彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch) H4111*, H6289*, 9216)、硬皮马勃(*Scleroderma polyrhizum* Pers. 9215)、蜡蘑(*Laccaria laccata* (Fr. ex Scop.) Berk et Br. E4602*)、粘滑菇(*Hebeloma westraliense* Bough. Tom. & Malajczuk E4070*, E4728*)。菌株号带"*"者为引自澳大利亚 CSIRO 的菌种, 由 N. Malajczuk 博士提供, 其余菌种分离自华南地区桉树林中该菌的子实体。菌种在 24～25 ℃条件下在 MMN 培养基培养 7～10 d 后备用。

供试青枯病菌: 青枯假单孢杆菌(*Pseudomonas solanacearum* 9501 菌株), 分离自广东省的桉树病株, 由华南 农业大学林学院岑炳占先生提供。病原菌在PDM 培养基上培养 7～10 d, 转入营养琼脂培养基[12] 中继续培养 3 d, 调节细菌浓度至 1.2×10^8 个 · mL^{-1}备用。

供试苗木及培养基质: 试验树种为尾叶桉, 种子由本所吴菊英先生提供。用罐栽苗木接种法[13]对芽苗实施菌根菌接种, 并在无菌的混合基质(蛭石∶泥炭∶河沙= 1∶1.5∶2) 中, 用常规方法进行移栽并继续进行培育, 接种 4 个月后对接种苗进行抽样检查, 在解剖镜下检查苗木菌根感染率, 并选取已完成菌根化的苗木进行抗病测定。

1.2 试验方法

菌根菌对青枯病菌的拮抗作用分别采用平板法和纸蝶法进行测定[14], 先在无菌培养皿中倒入 5 mL PDM 培养基, 待凝固以后每皿倒入上述青枯菌液 1 mL, 用无菌三角玻璃刮抹平全皿, 放置 4 h 后备用。平板法在每个平皿中接入生长旺盛, 龄期一致, 大小为 0.5 cm^2 的菌根菌菌丝团 3 个; 纸蝶法先将直径 6 mm 的无菌滤纸片放在菌根菌菌丝体悬浮液中浸泡 24 h, 取出后滴干, 放入培养皿中, 每皿均匀放置 3 片。试验每处理 3 个, 重复 4 次; 连续观测 72 h; 菌根化幼苗的青枯菌接种, 分别采用顶梢接种法[15]、伤根接种法、浸根接种法进行[14]; 顶梢接种法先剪去幼苗顶梢处的 4 片真叶, 造成人为伤口, 用装有消毒棉的微湿室夹住嫩梢[16], 接入青枯菌菌液 2 mL; 伤根及浸根接种, 先将每株处理苗用消毒利刀, 均匀地在幼苗根部切除数刀, 再在每株幼苗根部淋入青枯菌液5 mL 或将幼苗放入菌液中浸泡 24 h, 再用清水进行水培, 在 25～28 ℃条件下进行逐日观测并记载发病情况。

发病苗木观测, 除了观测苗木生长及病状外, 还进行幼茎或根系的维管束检查以及病部的显微镜观察, 同时抽样进行再分离试验, 证实为原接种青枯菌后, 最后确定接种苗是否感病。

试验每处理苗木 8～10 株, 重复 4 次, 随机排列; 田间试验采用随机区组设计, 每区组苗木 10 株, 重复 4 次; 每株苗木均施入复合肥(N∶P∶K= 15∶15∶15) 200 g, 常规管理, 定期观测调查。

苗木发病分级标准:

0 级: 全株生长正常; 1 级: 出现梢部萎蔫, 初期尚可恢复;

2 级: 出现枯梢达 1/3; 3 级: 出现枯梢达 2/3, 维管束部分变黑;

4 级: 幼苗枯梢达 2/3 以上或全株枯死, 茎部维管束变黑。

病情指数公式:

$$病情指数=\frac{\sum(病株数\times相应发病级数)}{调查总株数\times发病最高级数}\times 100$$

2　试验结果

2.1　菌根菌对青枯病菌的拮抗作用

利用平板法和纸蝶法分别对 8 个外生菌根菌株进行青枯病菌拮抗作用测定的结果表明, 8 个菌株对桉树青枯病菌均有不同程度的抑菌作用(表 1) , 均产生抑菌圈, 具一定的拮抗作用。但两种方法测定抑菌效果并不完全一致, 平板法测定结果是菌根菌对青枯病菌的直接抑菌效果, 以 E4602、9216、9402、E4070 及 H4111 等菌株的效果较好; 而纸蝶法测定结果是菌根菌代谢产物所产生的抑菌作用, 是间接抑菌效果, 以 E4070、9402、H4111 以及 E4728 等菌株为好。综合两种效果, 其菌根菌抑菌作用的大小依次为: 9216、E4070、9402、E4602、H4111、E4728、9215, 菌株 H6289 仅进行了平板法测定, 未统计在内。由于细菌生长繁殖速度快于菌根真菌, 因此, 在形成抑菌圈的初期也可能有细菌菌落产生, 其菌落数的多少也与不同菌种有关, 菌落在抑菌物质作用下一般也不再扩大繁殖, 说明不同菌根菌的代谢产物对病原细菌也有一定的抑菌效果。

表 **1**　菌根菌对 青枯病菌的抑菌效果

菌根菌株号	H4111	9216	9215	E4070	E4728	9402	E4602	H6289	CK
平板法抑菌圈/mm	10.48	14.25	10.31	11.69	8.94	11.52	14.75	4.75	0
纸蝶法抑菌圈/mm	5.0	3.0	2.75	5.75	4.75	5.67	2.25	–	0
平均圈内细菌落数/个	1.3	2.5	3.4	1.3	2.1	1.0	3.4	–	–
总抑菌效果/mm	15.48	17.25	13.06	17.24	13.79	17.23	17.0	–	0

2.2　尾叶桉菌根化苗木的抗病试验

2.2.1　切梢接种试验　尾叶桉菌根化苗经切去顶梢后, 用青枯菌液进行病害接种, 利用微湿室进行保温, 并逐日观测发病情况, 其结果见表 2。

表 **2**　尾叶桉菌 根化苗切梢接种结果

菌种代号	H4111	9216	E4070	E4728	9215	E6289	E4602	9402	CK
最早发病天数	19	20	17	6	8	–	6	–	6
死亡株数	3	0	9	12	9	–	16	–	32
死亡率/%	7.5***	0***	22.5***	30***	22.5***	–	40***	–	80
枯梢或萎蔫株数	12	6	8	8	9	–	9	–	4
病情指数	23.13***	8.75***	28.75***	35***	28.13***	–	23.75***	–	87.5

注: * * * 示 $P<0.001$。

表 2 结果表明, 切梢接种后最早发病天数为 6 d, 最迟发病天数为 20 d, 未接种菌根菌的对照苗病情指数最高, 达 87.5; 而菌根化苗木比对照苗病情指数分别降低了 52.5～78.75, 其中, 以苗木接种 9216、H4111、E4070 及 9215 等菌种的效果较好, 特别是经 9216 菌株接种的处理, 未见苗木死亡, 仅有个别植株出现萎蔫现象, 病情指数也最低, 效果理想。统计分析结果表明, 接种与对照之间在死亡率和病情指数间的差异极显著($P<0.001$) 。各菌种间的效果也有显著差异($P<0.001$) , 以 9216、H4111、E4070 和 9215 效果较好。

2.2.2 截根接种试验 尾叶桉菌根化幼苗按照相同刀数和相同切割深度进行截根后, 每株接入青枯菌液 5 mL, 再按常规方法, 在 25～28℃温度条件下继续培养, 逐日观测发病情况, 其结果见表 3。

表 3 尾叶桉菌根苗截根接种结果

菌种代号	H4111	9216	E4070	E4728	9215	H6289	E4602	9402	CK
调查株数	32	32	32	32	32	32	32	32	32
最早发病天数	8	10	6	6	7	4	2	6	2
死亡株数	7	6	6	3	7	6	5	8	16
死亡率/%	21.88***	18.75***	17.75***	9.38***	21.88***	18.75***	15.6***	25.0***	50
病情指数	27.34***	18.75***	21.87***	28.91***	25.78***	30.47***	19.53***	22.66***	65.63

表 3 结果表明, 菌根化苗木截根接种的最早发病天数普遍较早, 为 2～10 d, 最早发病仅需 2 d。未接种菌根的对照苗木不仅发病天数最短, 死亡株也多, 死亡率达 50%, 病情指数最高达 65.63。菌根化苗木除个别菌种外, 最早发病天数普遍推迟 2～8 d, 病情指数比对照苗降低 35.16～46.88, 其中以 9216、E4602、E4070 等菌种的效果较好。E4728 菌株虽然死亡率最低, 但萎蔫及枯梢株较多, 病情指数偏高; 而 9402 菌株虽然死亡率达 25%, 但萎蔫枯死株较少, 故病情指数并不太高。结果显示, 桉树苗木经菌根化之后, 在一定程度上可减轻青枯病危害。统计分析结果表明, 接种与对照间在死亡率和病情指数方面的差异极显著($P < 0.001$), 而各菌种间在死亡率上的差异不显著, 在病情指数方面的差异极显著($P < 0.001$)。

2.2.3 浸根接种试验 经人工截根后的菌根化苗浸入青枯菌液中 24 h, 取出后放入水培液中培养, 逐日观测发病情况, 其结果见表 4。

表 4 尾叶桉菌根化苗浸根接种效果

菌种代号	H4111	9216	E4070	E4728	9215	H6289	E4602	9402	CK
最早发病天数	30	30	20	25	20	20	20	30	15
死亡株数	10	8	10	6	12	6	4	0	18
死亡率/%	25***	20***	25***	15	30***	15***	10***	0***	45
枯萎株数	10	6	4	12	6	14	8	26	10
病情指数	23.44**	28.13**	21.87**	25.0**	32.81**	35.93**	20.31**	20.83**	48.83

表 4 结果可以看出, 浸根接种处理的最早发病日期普遍较迟, 可长达 20～30 d。对照的未接种苗发病最早天数仍然最短, 仅 15 d, 比其它菌根化苗早 5～15 d, 病株率高, 病情指数也最高。菌根化苗木不仅发病期推迟, 病株相对较少, 而发病指数比对照下降 12.9～28.52。其中以 E4602、9402、E4070 和 H4111 等菌种的效果为好, 病情指数比对照下降达 25.39～28.52。菌株 H6289 和 E4728 虽然死亡株少, 但枯梢株较多, 故病情指数偏高; 而接种 9402 菌株的苗木虽无死亡株, 但萎蔫及枯梢株多, 病情指数也偏高。统计分析结果表明, 接种与对照间, 死亡率的差异极显著($P < 0.001$), 而病情指数的差异为显著($P < 0.005$)。

2.3 尾叶桉菌根化苗木在重病区的造林效果

利用已培育的尾叶桉菌根化苗, 在原青枯病发生较严重的高要市回龙镇林地中砍去病树重新造林。试验采用随机区组设计, 每小区至少 8 株, 重复 4 次。每株幼树施复合肥 250 g, 常

规造林, 连续观测 2 a, 其发病及生长情况调查结果见表 5。

表 **5**　尾叶桉菌根化苗在重病林地上的造林效果

菌种代号	H4111	9216	E4070	E4728	9215	H6289	E4602	9402	CK
调查株数	43	34	38	32	32	45	32	44	32
死亡株数	10	7	7	3	8	9	5	11	16
死亡率/%	23.26***	20.58***	18.42***	9.37***	25.0***	20.0***	15.6***	25.0***	50
平均树高/m	1.70*	1.33*	1.8*	1.67*	1.24*	1.57*	1.35*	1.40*	1.19*
平均地径/cm	2.48*	2.02*	2.66*	2.32*	1.91*	2.46*	2.23*	2.18*	1.81

菌根化桉树苗造林试验的初步结果表明, 所有菌根化苗造林后的发病死亡率, 都低于非菌根化的对照苗, 死亡率降低 26.6% ～36.6%。其中以 E4728、E4602、E4070 及 9216 菌株的效果较好, 说明菌根化苗木在田间也表现出对青枯病的抗性。不仅如此, 接种菌根菌的幼树其生长表现也十分突出, 无论树高及地径生长均优于未接种的对照, 其中树高生长的最大增幅为 51.26%, 地径最大增幅达37.01%(图 1)。统计分析结果表明, 接种与对照之间的死亡率差异极显著($P<0.001$), 在幼树高生长的差异显著($P<0.005$), 但在地径方面的差异不显著。各处理真菌间仅在死亡率方面有差异($P<0.005$), 其它在树高及地径方面没有差异。

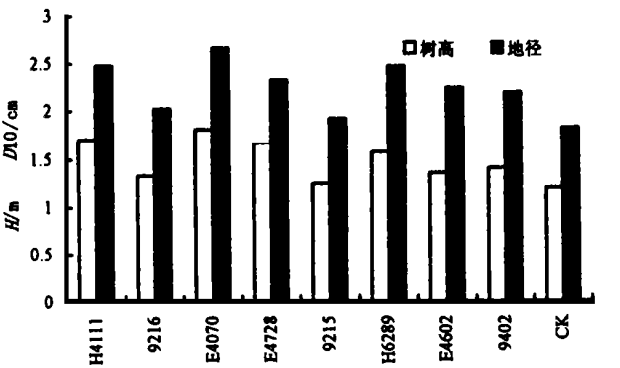

图 1　尾叶桉菌根化苗在重病区造林的生长

2.4　巨尾桉菌根化苗在新造林地的抗病及生长效果

利用已接种彩色豆马勃 9216 菌株的菌根化巨尾桉幼苗, 在广东开平镇海林场进行试验, 用未接种苗作对照。采用同一地块, 同一坡面和坡向, 采用相同造林措施和施肥水平, 每小区种植 36 株, 重复 4 次, 1 a 后进行调查, 其幼树生长及发病情况的差异均较大(表 6)。

表 **6**　巨尾桉菌根化苗的田间发病情况

苗木种类	平均树高/m	平均地径/cm	病死株数	病株率/%
菌根化苗	7.45 a	5.78 a	12	8.34
非菌根化苗(1)	4.04 b	4.76 b	58	20.14
非菌根化苗(2)	4.25 b	4.28 b	67	32.84

注: 同列字母相同者显著性分析在同一水平($P=0.05$)。

表 6 结果表明, 菌根化桉树幼苗在一般造林地上也显出抗病作用, 不仅发病率可降低 11.8% ～24.5%, 其平均树高比未接种苗增加 75.3% ～84.4%, 平均地径增加 21.4% ～35.0%。因此, 再次说明菌根化苗具有防治或减轻青枯病发生的作用, 不仅如此, 菌根化苗还有促进桉树生长的良好效果。

3 结 论

(1) 供试的 8 种外生菌根真菌对桉树青枯病均具不同程度的拮抗作用, 综合结果表明其拮抗作用大小依次为: 9216、E4070、9402、E4602、H4111、E4728、9215 菌株。各菌株在不同的条件下其效果表现并不一致, 可能与各菌种适应范围和各试验条件的不同有关, 但无论何种方法, 试验结果均证明, 菌根菌对青枯细菌确有不同程度的抑菌效果。

(2) 不同菌种形成的菌根化苗木, 在室内人工接种青枯病菌的条件下, 均可降低青枯病的感染率和病情指数, 或者可推迟青枯病的发生期。由于各试验的条件不同, 各菌种之间的表现也有差异, 除个别菌种外, 多数菌种在降低桉树青枯病发生的作用方面, 确有一定效果。

(3) 田间试验结果表明, 已经菌根化的桉树幼苗无论在轻病地区还是重病地区造林, 均可降低发病率和病情指数, 减少青枯病的危害; 不仅如此, 由于菌根的作用, 其幼林生长还普遍优于非菌根化苗木, 证明其田间效果也十分理想。因此, 大力推广应用菌根化的桉树苗造林, 不仅有减少青枯病发生及危害的作用, 而且还可促进树木生长, 可达到一举两得的效果。

(4) 利用菌根化桉树苗木防病的关键, 在于菌根真菌及其接种的有效性, 有的苗木虽然已经接种, 但并未形成菌根, 或菌根化程度低, 在这样的情况下, 其防病效果会受影响。有关菌根化桉树苗的抗病机理尚待进一步研究。

参 考 文 献

1 曹季丹. 巴西柳桉、巨桉青枯病调查初报, 广西林业科技, 1982, (4): 30～31.

2 梁子超, 郭全. 广东桉树青枯病初报. 林业科技通讯, 1986, (12): 封 2.

3 弓明钦, 柯金闪. 中国的桉树病害. 澳大利亚阔叶树种在中国的栽培和利用国际研讨会论文集, 1988. 47～52.

4 Davis W C, Wright E, Harley C. Diseases of forest tree nursery stock. Fed. Sec. Agency, Div. Cons. Corp. Forest Publ., 1942, 9.

5 Garrett S D. Biology of root-infecting fungi. Cambridge: Univ. Press, 1960.

6 Zak B. Role of mycorrhizae in root disease. Ann. Rev. Phytopathol., 1964, (2): 377～392.

7 郭秀珍. 松树某些外生菌根真菌对防治油松幼苗猝倒病的作用. 云南植物研究, 1981, 3(3): 359～366.

8 雷增普, 罗晓芳, 王昌温. 外生菌根菌对油松苗木猝倒病的生物防治效应. 北京林学院学报, 1981, 11(1): 81～89.

9 Levisohm I. Aberrant root infections of pine and spruce seedlings. New Phytol., 1954, (53): 284～290.

10 刘润进. VA 菌根与农业生产. 北京农业科学, 1992, 10(6): 34～39.

11 Fadjar R. The application of *glomus* sp. and Gow Dang for the control of bacterial with on tomato. In: Programmes and Abstracts of ACOM Ⅲ. Bogor, Indonesia, 1994. 4, 8.

12 俞大绂. 植物病理学和真菌学技术汇编(卷一). 北京: 高等教育出版社, 1959. 265.

13 弓明钦, 王凤珍, 陈羽. 桉树幼苗菌根接种及生长效应研究. 林业科学研究, 1992, 5(6): 639～645.

14 方中达. 植病研究方法. 北京: 农业出版社, 1979. 228.

15 吴清平, 梁子超. 桉树抗青枯病树种筛选. 华南农业大学学报, 1988, 9(4): 41～45.

16 植保组植病教研组. 植物病理学研究技术. 西北农学院, 1975. 62.

Inhibitory Effect of Ectomycorrhizal Fungi on Bacteria Wilt of *Eucalyptus*

Gong Mingqin　Chen Yu　Wang Fengzhen　Chen Yinglong
(The Research Institute of Tropical Forestry, CAF, 510520, Guangzhou, China)

Abstract　Field trials including nursery experiment were established in this research to determine the efficacy of antagonism of 8 ectomycorrhizal fungal isolates of 4 species to bacterial wilt pathogen. The results showed that these ectomycorrhizal fungi were effective in controlling the occurrence and development of this disease. The disease rates of mycorrhizal seedlings were reduced by 40.00%～72.78% in a nursery and 20.0%～38.9% in the field compared to those of uninoculated ones. Furthermore, the height and basal diameters growth of trees in the trials were enhanced by 11.67% to 59.7% respectively due to the contribution of inoculated fungi used in the experiments. There is a great potential to apply the techniques of mycorrhizal fungal inoculation to preventing the occurrence and development of the bacterial wilt in *Eucalyptus* plantations.

Key words　*Eucalyptus*; bacterial wilt; ectomycorrhizal fungi; benefit of prevention and control