

文章编号: 100F 1498(2002) 03 0338 05

温度对纵坑切梢小蠹伴生菌 ——云南半帚孢生长的影响*

廖周瑜, 叶辉**, 吕军

(云南大学生态学与地植物学研究所, 云南 昆明 650091)

摘要: 本文研究了纵坑切梢小蠹伴生菌云南半帚孢 *Leptographium yunnanense* 在不同温度下, 在 PDA 培养基、云南松木段和活树上的生长变化情况, 结果表明: 在 5—20 °C 温度范围内, 真菌的生长随温度的升高而加快, 云南松韧皮反应区长度逐渐增大; 在 20—35 °C 温度范围内, 真菌的生长随温度的升高而逐渐减弱, 韧皮反应区逐渐减小。说明温度变化使真菌的生长力与云南松的抗性之间的对比力量改变, 从而导致真菌的生长长度和韧皮反应区发生相应变化。

关键词: 纵坑切梢小蠹; 云南半帚孢; 云南松

中图分类号: Q939.5 文献标识码: A

小蠹虫伴生菌系指由小蠹虫携带并对树木有一定致病作用的病原性真菌^[1]。云南半帚孢 (*Leptographium yunnanense* Zhou X D, Jacobs K, Wingfield M J & Morelet M) 是纵坑切梢小蠹 (*Tomicus piniperda* Linnaeus) 的一种伴生菌, 其生命过程与小蠹虫保持着紧密联系^[2]。国外研究揭示半帚孢属真菌对松树有较强的侵染力和致病力^[3]。它们通过小蠹虫的蛀害过程而被携带进入寄主树木组织内, 并在其中生长繁殖, 消耗树木养分, 破坏韧皮细胞, 同时大量菌丝还将堵塞木质部管胞, 使木质部组织丧失正常的物质运输功能, 最终导致寄主树木受害枯萎, 甚至干枯死亡^[4-6]。因此, 纵坑切梢小蠹伴生菌在协助小蠹虫蛀害松树中扮演着重要的角色^[7]。该菌对寄主树木的危害, 将削弱树势, 降低寄主树木的抗性, 从而有利于小蠹虫在松树上的成功定殖, 加速树木的死亡进程^[2-9]。由此, 对小蠹虫伴生菌的研究已成为探索小蠹虫危害机理的一个重要方面。

小蠹虫伴生菌的生长强弱是小蠹虫成功定殖、危害寄主的重要因素。而温度是影响真菌生长的一个极为重要的因子。因此, 研究温度对小蠹虫伴生菌生长的影响, 有助于进一步认识蠹害机理以及蠹害的时空变化。

对纵坑切梢小蠹的另一主要分布于欧洲大陆的伴生菌温菲利薄粘束梗霉 (*L. wingfieldii* Wingfield) 的研究表明^[10]: 该菌在麦芽培养基上, 在 10—25 °C 范围内, 其生长随温度的升高而加快, 而在 3 °C 以下和 30 °C 以上条件下, 其生长缓慢, 但这仅表明伴生菌在特定培养基上的生长随温度的变化情况, 而在伴生菌对寄主的侵染过程中, 真菌的生长基质为寄主组织, 其生长

收稿日期: 2000-11-28

基金项目: 云南省应用基础研究基金(1999C0012M) 部分内容

作者简介: 廖周瑜(1976), 男, 四川阆中人, 在读博士, 现于西南林学院工作。

* 在野外取样及室内真菌培养过程中得到夏元铃的大力帮助; ** 为通讯作者。

还将受到寄主组织的抗性影响。因此,本研究拟采用不同培养基质,比较研究云南半帚孢的生长变化情况。

因其便于接种操作,小蠹虫伴生菌也常用来检测寄主树木的抗性。当将小蠹虫伴生菌接入寄主树木树干韧皮部后,韧皮部表面将逐渐在接种点周围形成一个纵向的深棕色长椭圆形的诱导性的反应区^[6]。韧皮反应区的形成是真菌生长与树木抗性反应之间相互作用的结果,其长度常用来衡量真菌的生长力和树木抗性的强弱^[11]。在相同条件下,反应区越长,真菌生长越长,说明树木对菌的抗性越弱;反之,则表明树木对菌的抗性越强^[11,12]。

云南松(*Pinus yunnanensis* Franch.)是云南省境内纵坑切梢小蠹的主要寄主^[13,14],也是云南半帚孢的主要寄主植物^[2]。本研究采用PDA培养基、云南松木段和活树作为云南半帚孢的培养基质,探讨其在不同温度条件下的生长情况,并对云南松的抗性变化作了探讨,为进一步探讨云南松蠹害机理及其时空变化的原因提供佐证。

1 材料与方法

云南半帚孢是从蛀害云南松的纵坑切梢小蠹虫体上分离所得,分离方法见参考文献[1,2],用PDA培养基在室温下培养,备用。

供试树木为15年生云南松,胸径7.5—8.0 cm,生长良好,未遭受病虫害危害。砍伐后在树干中上部取长约40 cm供试木段,木段两端及取韧皮部处用蜡封住以保持水分。

上述木段的中部用特制打孔器(孔径0.5 cm)对称各打1深及木质部的孔,移去韧皮部,接与孔径同样大小连同培养基的上述培养的真菌(菌龄15 d),再盖上移去的韧皮部,另在木段中部距接菌点5 cm处(减少孔间的相互影响)接灭菌培养基作对照;另取直径12 cm灭菌培养皿,倒入20 mL已灭好菌的PDA培养基,在培养皿中心点处接与打孔器孔径同样大小的真菌。

接好菌的云南松木段及培养皿分别分成8组,每组木段5根,培养皿3皿。1组置于野外样地中;其余7组分别置于已设置好的5、10、15、20、25、30、35 °C的温度条件下恒温培养;另外在野外样地中选择同样大小的云南松样树5棵,并在其胸高(1.3 m)处按上述方法接真菌和灭菌培养基;15 d后,测量木段及野外样树接种点上下韧皮反应区的纵向长度,取平均值即为韧皮反应区的长度(Reaction zone length, RZL);在垂直的两个方向上测量培养皿中菌落半径,取均值即为菌的生长长度(Fungal growth length, FGL)。

记录接种后野外样地中气温变化,包括试验期内最高温度、最低温度。

2 结果与分析

2.1 云南半帚孢在不同恒温条件下的生长

2.1.1 在PDA培养基上的生长 云南半帚孢在7种温度下15 d内生长情况见表1。总体上,在5—20 °C温度范围内,云南半帚孢的生长速度随温度升高而逐渐加快,而在20—35 °C温度

表1 不同温度下云南半帚孢在PDA培养基中的生长

温度/°C	5	10	15	20	25	30	35
生长长度/cm	0.51±0.009	0.62±0.073	5.05±0.029	5.75±0.012	2.27±0.139	2.06±0.023	0.12±0.006
平均生长速度/(cm·d ⁻¹)	0.03	0.04	0.34	0.38	0.15	0.14	0.01

范围内, 生长速度随温度升高而降低。在 20 °C 时, 生长速度达到最大, 而在小于 10 °C 和大于 30 °C 条件下, 生长缓慢, 生长速度较小。该结果表明, 不同温度下, 云南半帚孢在 PDA 培养基上的生长变化情况与温菲利薄粘束梗霉在麦芽培养基上的生长变化情况较一致。

2.1.2 在云南松木段的生长 实验结果(图 1)表明, 云南松木段韧皮反应区长度在 5—20 °C 温度范围内随温度升高而增大; 而在 20—35 °C 温度范围内, 随温度升高而减小。在 5—35 °C, 反应区长度的变化趋势与云南半帚孢的生长长度变化一致。

云南半帚孢在木段中生长而在木段的韧皮中形成的反应区长度, 比同温度条件下该菌在培养基上生长长度大, 约为 1—3 倍, 从而反映了该菌在木段中的生长比同温度条件下在 PDA 培养基上的生长长度要大, 表明该菌在寄主组织中的生长速度大于在 PDA 培养基中的生长速度。

云南松木段接无菌培养基的对照点韧皮反应区长度均很小, 在 0.5—0.6 cm 之间, 变化幅度很小(图 1)。经接菌后韧皮反应区长度远远大于对照木段中反应区长度, 表明本试验打孔形成的机械伤害对反应区形成的影响很小, 也即反应区主要是由于该菌的生长侵染导致的。

2.2 云南半帚孢在变温条件下的生长

野外样地中, 试验期间最高温度 26 °C, 最低温度 16 °C, 平均温度为 21.5 °C。云南半帚孢在试验期内的生长情况如下:

置于野外培养皿(PDA 培养基)中菌的平均生长长度为 5.61 cm (表 2), 比 20 °C 恒温下菌的生长长度(5.75 cm) 略小, 而比 25 °C 恒温下菌的生长长度(2.27 cm) 大(表 1)。

置于野外的松树木段反应区长度为 13.87 cm, 介于恒温 20 °C (RZL= 17.25 cm) 与 25 °C (RZL= 11.55 cm) 培养条件下的反应区长度之间。

上述试验结果表明, 该菌虽处于 16—26 °C 的变温条件下, 而变温期间的平均温度为 21.5 °C, 该菌生长的平均温度介于 20 °C 与 25 °C 之间, 结果其生长长度亦介于 20 °C 和 25 °C 恒温培养下的生长长度之间(表 2), 这说明均温对菌的生长影响更大。

表 2 野外样地中云南半帚孢的生长及韧皮反应区长度

培养皿中菌的生长长度/cm	云南松木段韧皮反应区长度/cm		云南松活树韧皮反应区长度/cm	
	接菌点	对照点	接菌点	对照点
5.61±0.015	13.87±1.175	0.55±0.013	7.09±0.858	0.27±0.003

野外样树反应区平均长度为 7.09 cm, 约为同温度变化条件下木段的反应区长度(13.87 cm) 的 1/2(表 2), 表明在活树上, 该菌的生长受到寄主树木抗性的较大抑制。

3 讨论

(1) 在培养皿、木段和活树上接种试验结果表明: 同温度下, 木段上云南半帚孢生长大于培

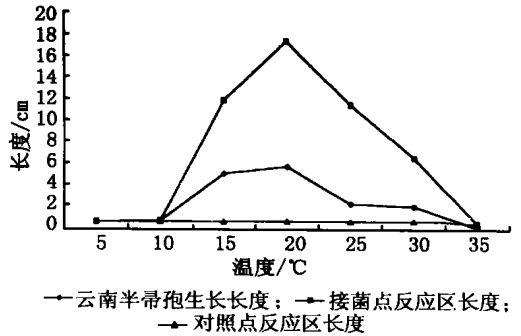


图 1 不同温度下云南半帚孢生长长度及云南松韧皮反应区长度

培养基中生长,表明云南半帚孢为寄生菌,其生长需要木段中的有关活性营养物质。另一方面该菌的寄生性受到寄主树木抗性物质的抑制,因此,同温度下,活树上菌的生长小于在木段上的生长。

(2) 云南半帚孢在木段上的生长速度比在 PDA 培养基上的生长速度大,但在这两种不同基质上的生长随温度变化的趋势一致。

(3) 在相同条件下,寄主树木反应区长度的大小既能反映真菌的生长力的大小,又能反映出寄主树木抗性的强弱。本试验采用同一环境条件下生长状态一致的云南松样树,但在温度梯度变化中,木段反应区长度变化很大,0.48 cm (35 °C) 17.25 cm (20 °C),相差约 36 倍,而且反应区长度随温度变化的趋势与菌本身生长的变化趋势一致。这说明温度的变化导致了云南半帚孢的生长变化,从而引起韧皮反应区长度变化。

(4) 云南半帚孢在一定温度范围内随温度的升高而生长加快,侵染能力增强,反映在寄主树木韧皮反应区长度增大,说明在该温度范围内,菌的生长侵染能力和树木抗性之间的力量对比发生的变化更有利于菌的生长。因此,应用小虫蠹伴生菌检测寄主树木的抗性,特别是检测寄主树木抗性时间和空间上的变化时,必须考虑温度的时空分布对菌本身生长的影响。

参考文献:

- [1] 周旭东,叶辉,丁骅孙. 云南松纵坑切梢小蠹蛀干期虫坑真菌类群初步研究[J]. 林业科学研究, 1999, 12(5): 556-560
- [2] Xu Dong Zhou, Karin Jacobs, Michel Morelet, et al. A new *Leptographium* species associated with *Tomiaus piniperda* in south western China [J]. Mycoscience, 2000, (41): 573-578
- [3] Solheim H, Langstrom B, Hellqvist L. Pathogenicity of the blue stain fungi *Leptographium wingfiddii* and *Ophiostoma minussect* of tree pruning and inoculum density[J]. Can J For Res, 1993, (23): 1438-1443
- [4] Solheim H, Langstrom B. Blue stain fungi associated with *Tomiaus piniperda* in Sweden and preliminary observations on their pathogenicity[J]. Ann Sci For, 1991, (48): 149-156
- [5] McCallum B D. Some wood stain fungi[J]. Trans Brit Mycol Soc, 1992, (7): 231-236
- [6] 叶辉. 小蠹虫伴生菌研究概况[J]. 世界林业研究, 1997, 10(1): 30-35
- [7] Piau D, Lieutier F. Observations symptomatologiques et roles possibles d' *Ophiostoma minus* Hedge et al *Tomiaus piniperda* L. Dans le dépérissement du pin sylvestre en forest d'Orleans[J]. Ann Sci For, 1989, (46): 39-53
- [8] Whitney H S. Relationships between bark beetles and symbiotic organisms[A]. In: Mitton J B, Sturgeon K B. Bark Beetles in North American Conifers. A System for the Study of Evolutionary Biology[M]. Austin: University of Texas Press, 1982. 183-211
- [9] Stephen F M, Berisford C W, Dahlsten D L, et al. Invertebrate and microbial associates[A]. In: Schowalter T D, Filip G M. Beetle pathogen Interactions in Conifer Forests[M]. London, Academic Press, 1993. 129-153
- [10] 叶辉, Lieutier Francois. 伴生菌(*L. wingfiddii*)对苏格兰松病害作用研究[J]. 森林病虫通讯, 1997, (4): 23-25
- [11] Krokene P, Solheim H. What do low density inoculations with fungus tell us about fungal virulence and tree resistance[A]. In: Lieutier F, Mattson W J, Wagner M R. Physiology and Genetics of Tree-phytophage Interaction (International Symposium) [C]. INRA, Paris, 1997. 353-362
- [12] 段焰青,陈善娜,叶辉,等. 云南松韧皮部接种纵坑切梢小蠹伴生真菌后几种酶活性的变化[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(4): 327-329
- [13] 王海林,陈尚文,吴钺,等. 昆明地区松纵坑切梢小蠹发生规律及其综合治理的初步研究[J]. 西南林学院学报, 1987, 2(8): 33-40
- [14] Ye H. On the bionomy of *Tomiaus piniperda* (L.) (Col., Scolytidae) in the Kuming region of China[J]. J Appl Ent, 1991, (112): 366

Influence of Temperature on the Growth of Fungus (*Leptographium yunnanense*) Associated with *Tomicus piniperda*

LIAO Zhou-yu, YE Hui, LU Jun

(Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China)

Abstract: *Leptographium yunnanense* is a blue-stain phytopathogenic fungus associated with *Tomicus piniperda*, which can assist the beetles in overcoming the resistance of their host trees. The length of phloem reaction zone induced by inoculation of blue-stain fungus is often used as a measure of fungal virulence or level of tree resistance, with longer reaction zone length implying a more virulent fungus or a physiologically weaker host tree. This paper reports the influence of temperature on the growth of the fungus and the resistance of its host trees (*Pinus yunnanensis*). The growth length of *L. yunnanense* increases with temperature from 5 °C to 20 °C, and the phloem reaction zone length also gradually increases; with temperature from 20 °C to 35 °C, the growth length of the fungus gradually decreases, and the phloem reaction zone length also gradually decreases. But these couldn't reflect the variation of the host trees' resistance or the fungus' virulence, they only mean that the variation of temperature has changed the competence abilities between the virulence of the fungus and the resistance of the host trees, and thus results in the variations between fungus growth length and the phloem reaction zone length.

Key words: temperature; *Tomicus piniperda*; *Leptographium yunnanense*; growth