

# 核桃腐烂病主要发病因子研究

岳朝阳,孔婷婷,阿衣夏木·亚库甫,焦淑萍,张新平

(新疆林业科学院 森林生态研究所,新疆 乌鲁木齐 830000)

**摘要:**采用正交试验的方法,研究了低温、低温处理时间和接种菌饼直径 3 个发病因子对核桃腐烂病的发病率、感病指数及潜育期的影响。结果表明,3 个因素对核桃腐烂病的发生均有显著性影响,其影响程度依次为:接种菌饼直径>低温>低温处理时间,并且在 $-30^{\circ}\text{C}$ 下处理 24 h 后,接种菌饼直径为 1.5 cm 的条件下,核桃腐烂病发生最为严重。

**关键词:**核桃腐烂病;正交试验;影响因子;低温

中图分类号:S763.1

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2015)01-0154-04

## Main Factors Affecting Walnut Rot Disease

YUE Chao-yang, KONG Ting-ting, AYIXIAMU · Yakufu, JIAO Shu-ping, ZHANG Xin-ping

(Institute of Forest Ecology, Xinjiang Academy of Forestry, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

**Abstract:** Orthogonal test was adopted to investigate the influences of three main factors (low temperature, processing time and inoculation diameter) on attributes of walnut rot disease, such as incidence, infection index and incubation period of *Cytospora juglandina*. The results showed that these three factors had significant effect on the development of the disease. The effect level was in an order of inoculation diameter > low temperature > processing time. *C. juglandina* was the most serious when the test was conducted under the conditions of inoculation diameter, 1.5 cm, temperature,  $-30^{\circ}\text{C}$  after 24 hours.

**Key words:** *Cytospora juglandina*; orthogonal test; affecting factors; low temperature

核桃腐烂病是由胡桃壳囊孢(*Cytospora juglandina*)引发的真菌病害<sup>[1]</sup>,主要分布在北方地区,新疆产区尤为严重<sup>[2]</sup>,主要危害枝干的皮层,造成枝枯或整株死亡<sup>[3-4]</sup>。一般年份发病率在 50%左右,严重时可达 90%以上<sup>[5]</sup>,成为影响核桃生长发育和产量的重要原因。病原真菌属于弱寄生菌,一切导致树势衰弱的因素都将促使危害加重,其中冻害是最重要的诱发因子,每当出现异常低温并造成冻害的年份,必将导致核桃腐烂病的大发生。因此,明确主要发病因子对核桃腐烂病的影响,对控制该病害有着极其重要的意义。本研究使用低温、低温处理时间、接种菌饼直径为试验因素,进行正交试验和方差分析,探索三因素对核桃腐烂病发病率、感病指数和潜育期的影响,旨在科学有效的防治核桃腐

烂病提供理论基础和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种来源

于 2013 年 5 月核桃腐烂病盛发期,从新疆核桃主产区采集核桃腐烂病罹病枝干,采用常规组织分离法对样品进行分离培养,获得的纯培养物保存于 PDA 斜面上,备用。

### 1.2 温度对病原菌生长的影响

参考陈丹<sup>[6]</sup>等方法,试验温度设置 0、5、10、15、20、25、30 $^{\circ}\text{C}$  共计 7 个温度梯度。无菌条件下,将纯化培养的菌落,用打孔器在菌落边缘打取直径 7 mm 菌饼,移植于 PDA 培养基平板中央,每处理 3 次重复,于上述温度分别培养,间隔 24 h 观察菌落

收稿日期:2014-04-11 修回日期:2014-08-07

基金项目:新疆自治区重大科技专项《特色林果重大病虫害持续高效绿色防控技术研究》(201130102-3);新疆自治区科技成果转化项目《巴旦木高效栽培及核桃、巴旦木有害生物防治技术集成与推广》(201354111)。

作者简介:岳朝阳,男,研究员,研究方向:林木有害生物研究。E-mail: yzhy.ok@163.com

生长情况,并采用十字交叉法测量菌落直径,绘制菌落生长情况折线图。

1.3 正交试验分析

1.3.1 试验材料 入冬前选择生长健壮、无病虫害、无机械损伤的 5~6 年生的核桃苗木,取 1~2 年生木质化的枝条,洗去浮灰,沙藏待用。

1.3.2 正交试验设计 低温、低温处理时间、接种菌饼直径 3 个因素单因素随机试验,研究各因子不同水平对核桃腐烂病发生的影响,按  $L_{16}(4^5)$  正交表(表 1)进行试验,共 16 个处理,每处理接种 10 株枝条,并设置 3 次重复。

表 1 正交试验因素水平

Table 1 Orthogonal test factors and levels

水平	因素		
	A 低温 /℃	B 低温处理时间/h	C 接种菌饼直径/cm
1	4	6	0
2	-10	12	0.7
3	-20	18	1.1
4	-30	24	1.5

1.4 接种方法

取出采集的核桃枝条,梢顶幼嫩部分去除,截取长约 20 cm 的枝条,将枝条按照表 1 的温度和时间处理后,从冰箱中取出,在无菌条件下用针刺法在枝条中上部进行接种,按照表 1 的接种菌饼直径切取菌饼,将菌饼接种于刺伤处,湿纱布缠绕使二者保湿固定,再用保鲜膜二次固定。将接种后的核桃枝条放入装有无菌水的大烧杯中,置于 25℃ 下恒温保湿培养。接种 15 d 后,去除保鲜膜,每天早晚喷雾保湿各 1 次,直至 70 d 后试验结束。

表 2 核桃腐烂病接种试验发病分级标准

Table 2 The severity grade of walnut rot disease

级别	代表值	发病程度
I	0	无危害,枝条正常
II	1	接种部位出现近梭形病斑,暗灰色,水渍状,微肿起
III	2	病斑扩展至 2~4 cm,用手指按压有液体流出,病皮变褐色,病皮失水下陷
IV	3	病斑扩展至 4 cm 以上,用手指按压有少量液体渗出,病皮变褐色,有酒糟味,枝条开始干枯,病斑上散生许多小黑点(分生孢子器),喷水后小黑点上涌出橘红分生孢子角
V	4	枝条干枯,病斑上散生许多小黑点(分生孢子器),喷水后小黑点上涌出橘红色分生孢子角

1.5 数据测定与统计分析

每天注意观察病害发展情况,记录各处理的潜育期<sup>[7-8]</sup>;接种 70 d 后,分别对发病率和感病指数<sup>[9]</sup>等数据进行调查统计。数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析<sup>[10]</sup>。

感病指数 =  $\sum(\text{病级株数} \times \text{代表数值}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高病级代表数值}) \times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 不同温度对核桃腐烂病菌菌丝生长的影响

试验结果表明(图 1),核桃腐烂病菌菌丝生长的温度范围较广泛,在 0~30℃ 均可生长,但生长速度存在明显差异。温度为 20~25℃ 时菌丝生长快,菌丝致密,形态正常,为生长的适宜温度,其中 25℃ 为最适温度;温度低于 10℃ 时菌丝生长缓慢、稀薄,30℃ 时菌丝生长受到抑制。

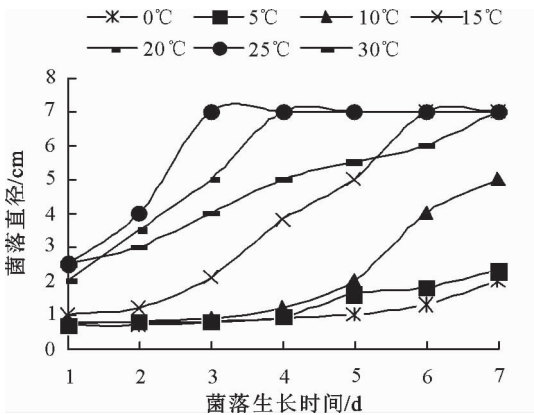


图 1 不同温度条件下病原菌生长状况

Fig. 1 Effect of temperature on mycelial growth of *C. juglandina*

2.2 影响因子分析

对正交试验结果进行方差分析(表 3、表 4)和多重比较<sup>[11-12]</sup>(表 5),可以看出 3 个因素对核桃腐烂病的发生均有影响。

表 3 正交试验调查

Table 3 Orthogonal test results

处理	因素 A	因素 B	因素 C	发病率 /%	感病指数	潜育期 /d
1	1	1	4	3.3c	0.83e	41.33bc
2	1	2	3	26.7c	13.30bc	51.67b
3	1	3	1	3.3c	0.83e	43.67bc
4	1	4	2	20.0c	5.00de	44.67bc
5	2	1	1	3.3c	0.83e	38.33cd
6	2	2	2	13.3c	3.30e	45.33bc
7	2	3	4	50.0b	25.00c	38.67cd
8	2	4	3	63.3b	20.00bc	32.33de
9	3	1	3	16.7c	8.30de	25.33ef
10	3	2	4	73.3b	50.00ab	25.00ef
11	3	3	2	23.3c	11.70bc	32.67de
12	3	4	1	3.3c	0.83e	62.33a
13	4	1	2	60.0b	45.00ab	19.67f
14	4	2	1	3.3c	0.83e	38.33cd
15	4	3	3	70.0b	41.30b	17.33f
16	4	4	4	96.7a	56.70a	18.67f

注:发病率(% )、感病指数及潜育期(d)均为 3 重复的平均值。

2.2.1 低温对核桃腐烂病的影响 因素 A 低温对核桃腐烂病的发病率、感病指数和潜育期均有影响,

且在 0.05 水平上均有显著性差异。4 个温度水平的发病率之间,均存在极显著的差异;−30℃下的感病指数与其他温度下有显著差异性,−10℃和−20℃的感病指数间无显著性差异;4℃下的潜育期与其他温度下有显著差异性,−10℃和−20℃的潜育期间无显著差异。

2.2.2 低温处理时间对核桃腐烂病的影响 因素 B 低温处理时间对该病的发病率和潜育期有显著性差异,对感病指数没有显著性差异。对于发病率来说,处理 6 h 和处理 24 h 间存在显著差异性,处理时间长,相应的发病率就高;对于病菌的潜育期来

说,处理 6 h 和 18 h 与处理 12 h 和 24 h 间存在显著差异性。

2.2.3 接种量菌饼直径对核桃腐烂病的影响 因素 C 接种量菌饼直径对核桃腐烂病的发病率、感病指数和潜育期均有显著影响。4 个菌饼直径水平的发病率之间,均存在极显著的差异;菌饼直径为 1.5 cm 时的感病指数与其他接种量菌饼直径下有显著差异性,菌饼直径为 0.7 cm 和 1.1 cm 的感病指数间无显著差异;菌饼直径为 0 时的潜育期与其他菌饼直径下有显著差异性,其他菌饼直径间的潜育期无显著差异性。

表 4 方差分析  
Table 4 Variance analysis

指标	变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	p
A 低温/℃	发病率	12 022.917	3	4 007.639	11.012	0.000
	感病指数	6 286.807	3	2 095.602	11.860	0.000
	潜育期	3 006.917	3	1 002.306	12.934	0.000
B 处理时间/h	发病率	4 089.583	3	1 363.194	3.746	0.019
	感病指数	346.391	3	115.464	0.653	0.586
	潜育期	729.417	3	243.139	3.137	0.036
C 接种量菌饼直径/cm	发病率	18 489.583	3	6 163.194	16.935	0.000
	感病指数	6 405.766	3	2 135.255	12.084	0.000
	潜育期	1 658.750	3	552.917	7.135	0.001
误差	发病率	13 829.167	38	363.925		
	感病指数	6 714.531	38	176.698		
	潜育期	2 944.833	38	77.496		

2.3 3 个因素比较分析

从表 5 的极差(R)分析可以看出,3 个试验因素对核桃腐烂病发病率、感病指数的影响程度依次序为:接种菌饼直径>低温>处理时间,并且在 3 个因素均在最高水平时发病率、感病指数均最高,分别达

96.7%和 56.70;3 个试验因素对该病害潜育期的影响程度次序为:温度>接种菌饼直径>处理时间,在优组合 A<sub>1</sub>C<sub>1</sub>B<sub>2</sub> 条件下潜育期最长,A<sub>4</sub>C<sub>4</sub>B<sub>1</sub> 条件下潜育期最短。

表 5 极差分析和不同因素水平多重比较  
Table 5 Range analysis and multiple comparison level of different factors

指标	水平	A 低温	B 处理时间	C 接种量菌饼直径	主次水平	优组合
发病率/%	1	13.33c	20.83c	3.33d	C>A>B	C <sub>4</sub> A <sub>4</sub> B <sub>4</sub>
	2	32.50b	29.17bc	29.17c		
	3	29.17b	36.67ab	44.17b		
	4	57.50a	45.83a	55.83a		
	R	44.17	25.00	52.50		
感病指数	1	5.00c	13.75	0.83c	C>A>B	C <sub>4</sub> A <sub>4</sub> B <sub>4</sub>
	2	12.29b	16.88	16.25b		
	3	17.71b	19.71	20.75b		
	4	35.96a	20.63	33.13a		
	R	30.96	6.88	32.30		
潜育期/d	1	45.33a	31.17b	45.67a	A>C>B	A <sub>1</sub> C <sub>1</sub> B <sub>2</sub>
	2	38.67b	40.83a	35.58b		
	3	36.33b	33.08b	31.67b		
	4	23.50c	39.50a	30.92b		
	R	21.83	9.66	14.75		

2.4 3 个因素综合平衡分析

根据研究结果的综合平衡分析,接种菌饼直径是核桃腐烂病发病率和感病指数的主要影响因素,是潜育期的次主要影响因素,并且均在第 4 水平时差异最为显著;低温是潜育期的主要影响因素,是发病率和感病指数的次主要影响因素,并且均在第 4 水平时有最显著差异;低温处理时间对发病率、感病指数和潜育期的影响均排在最后,对感病指数没有显著性影响,为相对不重要因素。可以得出,3 个因素对核桃腐烂病发病率、感病指数以及潜育期的影响程度依次为:接种量菌饼直径>低温>低温处理时间。所以,在-30℃下处理 24 h 后,接种量菌饼直径为 1.5 cm 的条件下,核桃腐烂病发生最为严重。从单因素分析,温度越低潜育期越短,发病率和感病指数越高;菌饼直径越大,潜育期越短,发病率和感病指数越高。

3 结论与讨论

核桃腐烂病病原菌胡桃壳囊孢在 0℃~30℃范围内均可生长,但生长速度存在明显差异,25℃为其生长的最适宜温度。

低温、低温处理时间和接种菌饼直径均为核桃腐烂病的发病影响因子,对病情的发生有显著性影响。接种菌饼直径和低温为该病发生的主要因素,处理时间为次主要因素。可能由于处理时间的水平设置间隔较短,导致其影响差异不十分显著,如果对其处理时间的水平设置做适当的延长,可能会增加其影响效果,当然这种推测有待进一步研究。

核桃腐烂病菌为弱寄生菌,并有潜伏侵染特性<sup>[1,4,13]</sup>。本研究中,接种菌饼直径为 0 的条件下,仍有病害发生,这与核桃腐烂病菌的弱寄生性相符。病原菌在生长健壮的核桃树上定植后,呈潜伏状态,一般不会发病或发展十分缓慢,而枝条经过低温处理后,造成树势衰弱,使潜伏的病菌转为致病状态,从而导致了腐烂病的发生。进一步说明低温有利于病害的发生,是核桃腐烂病的主要发病因子。

接种量大、处理温度越低,核桃腐烂病发生越重。这与生产中存有大量病原菌、出现异常低温并造成冻害的年份,必将导致核桃腐烂病大发生的实际相符合<sup>[4,14]</sup>。为防治核桃腐烂病提供了新的思路,从选用无菌母树入手,尽量采用无菌繁殖,及时清除田间病残体,加强药剂防治,减少病原菌在田间的积累;出现异常低温的年份,采取措施防止冻害的发生。

参考文献:

[1] 刘振坤. 林木病害防治[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1988:

100-104.

[2] 于长春. 核桃腐烂病防治方法[J]. 河北果树, 2012 (3): 51-52.

[3] 胡柏文, 车凤斌, 潘俨, 等. 核桃腐烂病发生与防治[J]. 农村科技, 2012 (1): 41-42.

[4] 白岗栓. 核桃腐烂病的发生与防治[J]. 陕西林业科技, 2000 (1): 38-40.

BAI G S. Occurrence and controlling of the rot in Walnut[J]. Shaanxi Forest Science and Technology, 2000 (1): 38-40. (in Chinese)

[5] 闫淑贤. 核桃腐烂病的防治[J]. 现代农村科技, 2009 (11): 29.

[6] 陈丹, 曹支敏, 王培新. 花椒落叶病寄主抗病性及其病原菌生物学特性[J]. 西北林学院学报, 2008, 23(6): 126-128.

CHEN D, CAO M Z, WANG P X. The host's resistance to *Zanthoxylum bungeanum* disease and pathogen's biological characteristics defoliation disease[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(6): 126-128. (in Chinese)

[7] 曹支敏, 李振岐, 胡景江. 落叶松—杨栅锈菌生理分化研究[J]. 西北林学院学报, 1998, 13(1): 53-57.

CAO Z M, LI Z Q, HU J J. Physiological Specialization in *Melampsora larici-populina* Kleb[J]. Journal of Northwest Forestry University, 1998, 13(1): 53-57. (in Chinese)

[8] 岳朝阳, 张新平, 焦淑萍. 天山杉菌核病的研究[J]. 西北林学院学报, 2001, 16(4): 46-49.

YUE C Y, ZHANG X P, JIAO S P. Studies on sclerotinose of *Picea csrenkiana* var. *tianschanica*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2001, 16(4): 46-49. (in Chinese)

[9] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998:329-330.

[10] 据松苗. SPSS 在林业生产和科学研究中的应用实例解析[J]. 安徽林业科技, 2011, 38(1): 28-30.

JU S M. Case analysis on application of SPSS software in forestry production and scientific research[J]. Anhui Forest Science and Technology, 2011, 38(1): 28-30. (in Chinese)

[11] 黄红兰, 胡青, 谢登峰, 等. 全光照自动喷雾条件下毛红椿嫩枝扦插正交试验分析[J]. 江西林业科技, 2013(5): 14-18.

HUANG H L, HU Q, XIE D F, *et al.* Orthogonal analysis of *Toona ciliata* var. *pubescens* softwood cutting under full light automatic spray conditions[J]. Jiangxi Forest Science and Technology, 2013(5): 14-18. (in Chinese)

[12] 段立军. 番茄穴盘育苗中菇渣复配基质配方与不同肥料施用量的筛选[J]. 黑龙江农业科学, 2014(1): 37-40.

DUAN L J. Screening of mushroom residue compound matrix formula and amount of different fertilizers in plug seeding of tomatoes[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2014(1): 37-40. (in Chinese)

[13] 张天勇. 核桃腐烂病发生规律及防治技术[J]. 陕西林业科技, 2012(3): 78-79, 82.

ZHANG T Y. Techniques to control and prevent rot in Walnut[J]. Shaanxi Forest Science and Technology, 2012(3): 78-79, 82. (in Chinese)

[14] 周根强. 核桃腐烂病的发生与防治[J]. 现代农业科技, 2012 (12): 132.