

文章编号: 100F-1498(2002)04-0499-04

杨树冰核细菌溃疡病寄主树栖细菌种群相互拮抗关系的研究

池玉杰, 邹莉, 赵科研

(东北林业大学森林资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

关键词: 杨树; 冰核细菌溃疡病; 树栖细菌; 种群关系

中图分类号: S792.11 S763.113 文献标识码: A

“杨树树栖细菌种群”的构成成员之中有引起树木病害的病原细菌。而病原细菌在引起杨树病害时,并非单独起作用,而是有与其他伴生微生物发生着种群演替、协同或排斥等过程,也可能长期潜伏而不致病。其结果也并非完全是树栖微生物群落自身的作用,而是其与寄主群落和环境相互作用的结果^[1]。杨树冰核细菌溃疡病是世界分布广泛、危害严重的杨树(*Populus* spp.)重要病害。我国于1982年首次在黑龙江省肇东市发现。该病害主要分布于东北三省的杨树栽培地区,已对杨树的栽培种和三北防护林构成严重威胁,有些林地发病率达80%以上。近年来已对该病的病因、病情、流行、测报、检疫、诱导抗性、感病生理和防治等进行了一系列的研究^[2-6],但对于栖息在杨树上的细菌种群之间相互关系的研究还未见报道,本文在清楚感染细菌溃疡病的杨树树栖细菌种群组成成员的基础上^[3-6],进行了这些树栖细菌种群之间相互关系的研究,旨在为综合分析和深入探讨杨树细菌溃疡病的发生机理及其防治措施提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 细菌种群的来源 细菌种群分离自黑龙江省阿城市林业局料甸林场杨树细菌溃疡病发病较重的杨树人工林内的A₁₀₀、A₁₅和美洲黑杨×青杨(*P. deltoides* Bartr. × *P. cathayana* Rehd.),样品包括感染杨树细菌溃疡病的杨树干、枝和叶,在干部又在韧皮部、木质部和心材分别取样。

1.1.2 杨树树栖细菌种群 在上述样品中除分离到杨树冰核细菌溃疡病的具有冰核活性的病原细菌成团泛氏菌(*Pantoea agglomerans* (Beijerinck) Gavini et al.)和丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae* van Hall)外,还分离到另外7种伴生细菌:栗褐芽孢杆菌(*Bacillus badius* Batchelor)、蜡状芽孢杆菌(*B. cereus* Frankland et Frankland)、地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis* (Weigmann) Chester)、巨大芽孢杆菌(*B. megaterium* de Bary)、巴氏芽孢杆菌(*B. pasturii*

收稿日期: 2002-01-28

基金项目: 2000年黑龙江省自然科学基金资助项目(C0032)

作者简介: 池玉杰(1964),女,辽宁葫芦岛人,副教授,博士,主要从事林木微生物的研究。

(Miquel) Chester)、短小芽孢杆菌(*B. pumilus* Meyer et Gottheil)和苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis* Berliner)^[7-9]。据曾大鹏等^[4,5]和项存悌等^[3]的报道,杨树冰核细菌溃疡病具有冰核活性的细菌共有5种,而成团泛氏菌(*P. agglomerans*)出现频率最高,本文主要进行了这种病原细菌与其他8种伴生细菌之间相互关系的测定与研究。

1.2 试验方法

采用对峙培养试验,测定不同细菌种群之间的相互关系^[10]。

将上述9种树栖细菌,进行扩大培养,菌浓度 $> 108 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。分别取9种细菌菌液与已灭菌并冷却到 $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的肉汤蛋白胨培养基混匀,倒平板,得到9种细菌肉汤蛋白胨平板菌种。把直径约为 1 cm 的无菌滤纸片,分别放入9种细菌菌悬液中。然后在平板凝固后,对于每一种细菌的肉汤蛋白胨平板,分别放入另外8种细菌的菌悬液滤纸片,每个平板可放3个滤纸片,每组做3个重复,对于每一种细菌来说,另外8种细菌对它的对峙培养试验共为24个平板,9种细菌共为216个平板(见表1),然后将这样的平板放入 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 温箱中培养。分别在24、48、72、96 h观察抑菌圈的发生情况及抑菌圈的大小。

2 结果与分析

2.1 对峙培养试验结果

9种细菌之间对峙培养试验的结果见表1。

2.2 树栖细菌种群之间的相互关系

从表1可以看出,在9种细菌之间,共有60对无拮抗作用,12对有拮抗作用。这说明杨树细菌溃疡病树栖细菌种群之间的主要关系是共存关系,少数存在着拮抗关系。

2.3 拮抗作用与时间的关系

随着培养时间的延长,出现拮抗作用的细菌数增多,抑菌圈范围逐渐扩大,拮抗作用表现越明显。24 h有3对拮抗菌,48 h有4对拮抗菌,72 h有9对拮抗菌,96 h有12对拮抗菌。

这说明拮抗作用是一个过程,细菌在其生命活动过程中,产生对其他微生物有害的某种次生代谢产物需要一定的时间。

2.4 拮抗作用的相互性

在12对拮抗反应中,只有巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)和病原菌成团泛氏菌(*P. agglomerans*)之间存在相互的拮抗关系外,其余存在拮抗作用的细菌之间都是单向抑制,不具相互的拮抗关系,如巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)对栗褐芽孢杆菌(*B. badius*)有拮抗作用,而栗褐芽孢杆菌(*B. badius*)对巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)却没有拮抗作用,说明拮抗反应不存在相互性。

2.5 弱势菌的存在

在9种细菌中,有5种细菌对巴氏芽孢杆菌(*B. pasteurii*)有拮抗作用,说明巴氏芽孢杆菌(*B. pasteurii*)是1种弱势菌种。

3 结论

(1)经过长期的自然选择,生长在杨树上的树栖细菌种群之间虽然存在着少数不同种群之间的拮抗关系,但种群共存关系是主要关系。

表1 对峙培养试验结果

配对培养的两种细菌种名	24 h	48 h	72 h	96 h	配对培养的两种细菌种名	24 h	48 h	72 h	96 h
蜡状芽孢杆菌对栗褐芽孢杆菌	-	-	-	-	栗褐芽孢杆菌对短小芽孢杆菌	+	+	+	+
地衣芽孢杆菌对栗褐芽孢杆菌	-	-	-	-	蜡状芽孢杆菌对短小芽孢杆菌	-	-	-	-
巨大芽孢杆菌对栗褐芽孢杆菌	+	+	+	+	地衣芽孢杆菌对短小芽孢杆菌	-	-	-	-
巴氏芽孢杆菌对栗褐芽孢杆菌	-	-	-	-	巨大芽孢杆菌对短小芽孢杆菌	-	-	-	-
短小芽孢杆菌对栗褐芽孢杆菌	-	-	-	-	巴氏芽孢杆菌对短小芽孢杆菌	-	-	-	-
苏云金芽孢杆菌对栗褐芽孢杆菌	-	-	-	-	苏云金芽孢杆菌对短小芽孢杆菌	-	-	-	-
<u>成团泛氏菌对栗褐芽孢杆菌</u>	-	-	-	-	<u>成团泛氏菌对短小芽孢杆菌</u>	-	-	-	-
丁香假单胞菌对栗褐芽孢杆菌	-	-	-	-	丁香假单胞菌对短小芽孢杆菌	-	-	-	-
栗褐芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	栗褐芽孢杆菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
地衣芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	蜡状芽孢杆菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
巨大芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	地衣芽孢杆菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
巴氏芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	巨大芽孢杆菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
短小芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	巴氏芽孢杆菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
苏云金芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	短小芽孢杆菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
<u>成团泛氏菌对蜡状芽孢杆菌</u>	-	-	-	-	<u>成团泛氏菌对苏云金芽孢杆菌</u>	-	-	-	-
丁香假单胞菌对蜡状芽孢杆菌	-	-	-	-	丁香假单胞菌对苏云金芽孢杆菌	-	-	-	-
栗褐芽孢杆菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	-	栗褐芽孢杆菌对成团泛氏菌	-	-	-	-
蜡状芽孢杆菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	+	蜡状芽孢杆菌对成团泛氏菌	-	-	-	-
巨大芽孢杆菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	-	地衣芽孢杆菌对成团泛氏菌	-	-	-	-
巴氏芽孢杆菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	-	巨大芽孢杆菌对成团泛氏菌	-	-	-	+
短小芽孢杆菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	-	巴氏芽孢杆菌对成团泛氏菌	-	-	-	-
苏云金芽孢杆菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	-	短小芽孢杆菌对成团泛氏菌	-	-	-	-
<u>成团泛氏菌对地衣芽孢杆菌</u>	-	-	-	-	<u>苏云金芽孢杆菌对成团泛氏菌</u>	-	-	-	-
丁香假单胞菌对地衣芽孢杆菌	-	-	-	-	<u>丁香假单胞菌对成团泛氏菌</u>	-	-	-	-
栗褐芽孢杆菌对巨大芽孢杆菌	-	-	-	-	栗褐芽孢杆菌对丁香假单胞菌	-	-	-	-
蜡状芽孢杆菌对巨大芽孢杆菌	-	-	-	-	蜡状芽孢杆菌对丁香假单胞菌	-	-	-	-
地衣芽孢杆菌对巨大芽孢杆菌	+	+	+	+	地衣芽孢杆菌对丁香假单胞菌	-	-	-	-
巴氏芽孢杆菌对巨大芽孢杆菌	-	-	-	-	巨大芽孢杆菌对丁香假单胞菌	-	-	-	-
短小芽孢杆菌对巨大芽孢杆菌	-	-	+	+	巴氏芽孢杆菌对丁香假单胞菌	-	-	-	-
苏云金芽孢杆菌对巨大芽孢杆菌	-	-	-	-	短小芽孢杆菌对丁香假单胞菌	-	-	-	-
<u>成团泛氏菌对巨大芽孢杆菌</u>	-	-	-	+	<u>苏云金芽孢杆菌对丁香假单胞菌</u>	-	-	-	-
丁香假单胞菌对巨大芽孢杆菌	-	-	-	-	<u>成团泛氏菌对丁香假单胞菌</u>	-	-	-	-
栗褐芽孢杆菌对巴氏芽孢杆菌	-	-	+	+					
蜡状芽孢杆菌对巴氏芽孢杆菌	-	-	-	-					
地衣芽孢杆菌对巴氏芽孢杆菌	-	+	+	+					
巨大芽孢杆菌对巴氏芽孢杆菌	-	-	+	+					
短小芽孢杆菌对巴氏芽孢杆菌	-	-	+	+					
苏云金芽孢杆菌对巴氏芽孢杆菌	-	-	-	-					
<u>成团泛氏菌对巴氏芽孢杆菌</u>	-	-	+	+					
丁香假单胞菌对巴氏芽孢杆菌	-	-	-	-					

注: ①表中加号(+)表示出现抑菌圈, 减号(-)表示没有抑菌圈。如出现抑菌圈, 则抑菌圈随着培养时间的延长而扩大; ②细菌名称下带下划线者为病原菌与其他8种伴生细菌之间的对峙培养

(2) 随着时间的推移, 拮抗关系越来越明显, 出现拮抗关系的细菌增多。这说明拮抗作用是一个过程, 细菌在其生命活动过程中, 产生对其他微生物有害的某种次生代谢产物需要一定

的时间;并且随着细菌生长时间的延长,这些次生代谢产物的种类和数量将会增加,这或许就是拮抗作用的产生机理。

(3)在杨树上的树栖细菌种群之间,仅有巨大芽孢杆菌和病原菌成团泛氏菌之间存在着相互的拮抗关系,其他具有拮抗关系的杨树树栖细菌种群之间的拮抗作用不存在相互性。

(4)搞清不同生境内的微生物种群之间的相互关系,对于抑制有害微生物的生长、选择生物防治用优良菌种、制造生物肥料、筛选生物制浆用复合菌种、污水处理等环境净化都具有很重要的实用意义。在其他生态环境中的微生物种群之间的相互关系,例如在人体肠道内、土壤内、各种水域内、还有在各种极端环境中如极寒、极热、强酸、强碱、干燥条件下等等,还有待进一步深入探讨与研究。

参考文献:

- [1] Scott E S. Population of bacteria in poplar stem[J]. Eur J For Path, 1984, 14: 103-112
- [2] 晁龙军, 吕全, 贾秀珍, 等. 生物冰核研究与应用的现状和前景[J]. 林业科学研究, 2001, 14(4): 446-454
- [3] 项存梯, 宋福强, 柳京花, 等. 杨树冰核细菌溃疡病发病的主导因素[J]. 东北林业大学学报, 2001, 29(3): 109-113
- [4] 曾大鹏, 晁龙军, 孙福在, 等. 杨树上的冰核细菌及其在引起杨树冻害和诱发真菌溃疡病过程中的作用[J]. 林业科学, 1999, 35(3): 53-57
- [5] 曾大鹏, 张永祥, 晁龙军, 等. 北方杨树上冰核活性细菌的研究[J]. 林业科学研究, 1994, 7(5): 488-491
- [6] 邹莉, 项存梯, 毛得奖, 等. 杨树冰核细菌溃疡病寄主树栖伴生细菌的研究[J]. 东北林业大学学报, 2000, 28(5): 134-136
- [7] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰氏细菌鉴定手册(第8版)[M]. 《伯杰氏细菌鉴定手册》翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984
- [8] 斯克罗曼 V B D. 细菌属的鉴定指导[M]. 蔡妙英译. 北京: 科学出版社, 1992
- [9] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社, 1978
- [10] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986

Study on Inter-antagonism of Host Tree-inhabiting Bacterium Populations of Poplar Ice Nucleation Active(INA) Bacterial Canker

CHI Yurjie, ZOU Li, ZHAO Keyan

(Forest Resources and Environment Institute, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

Abstract: Replica platings among 9 species bacteria isolating from the stems, branches and leaves of poplar infected by INA bacterial canker were made. They are the pathogen *Pantoea agglomerans*, 7 species of *Bacillus*, and *Pseudomonas syringa*. Results showed that the majority of poplar inhabiting bacteria are interspecific symbiont, the minority have antagonistic action in interspecies. It provided basic studies for further explore the roles of the poplar-inhabiting bacteria in natural contracting of poplar bacterial canker, and also further select antagonistic microbe for effective biocontrol to poplar bacterial canker.

Key words: poplar; ice nucleation active bacterial canker; tree-inhabiting bacteria; population correlation