

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.000000

欧美杨细菌性溃疡病菌的寄主范围调查 及其寄主抗性物质的初步分析

李永^{1*}, 常聚普², 郭利民², 孙尚¹, 杨旭琦², 朴春根¹

(1. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 北京 100091; 2. 濮阳市林科所, 河南 濮阳 457000)

摘要: [目的] 为明确欧美杨细菌性溃疡病菌的寄主范围、欧美杨抗性品种及其可能的抗性活性物质。[方法] 本研究通过田间接种方法开展欧美杨细菌性溃疡病菌的寄主范围、杨树品系抗性调查, 并利用高效液相色谱分析杨树抗感品种树皮中活性物质含量及其染病前后含量变化情况, 同时利用抑菌实验验证潜在抗性物质的活性。[结果] 研究发现欧美杨细菌性溃疡病主要危害黑杨派美洲黑杨、欧美杂交杨的品系以及旱柳, 而欧洲黑杨品系具有高度抗菌能力; 本研究的 30 个美洲黑杨和欧美杂交杨品系中, 中林 46 杨、2025 杨、2001 杨、313 杨、中荷 1 号杨和 16-09 杨是高感病品系; 16-10 杨、豫抗 1 号杨为高抗病品系, 而 131 杨、03-59 杨、02-212 杨和 03-34 杨为抗病杨树品种; 杂交柳和垂柳抗病, 金丝柳轻微感病; 栎属和青杨派的种类和品系具有高度抗性。高效液相色谱分析显示, 抗病和高感病品系树皮中的邻苯二酚、苯甲酸、绿原酸、儿茶素的含量较高, 其中邻苯二酚和儿茶素在病菌侵染时含量明显增加。[结论] 明确了欧美杨细菌性溃疡病的主要危害对象和寄主范围, 明确了具有抗性、感病的杨树品系, 证明了邻苯二酚和儿茶素与杨树抗病性密切相关, 该研究结果为欧美杨的栽培和病害防治提供技术支持和防治建议, 该研究结果对我国欧美速生杨的细菌性溃疡病的防治具有重要意义。

关键词: 欧美杨; 溃疡病; 抗性物质; 细菌

中图分类号: S763.13

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2021)x-0001-08

速生杨是我国人工林的主要树种, 主要栽培品系为美洲黑杨 (*Populus deltoides* W. Bartram ex Marshall) 和欧美杨 (*Populus × euramericana* (Dode) Guinier) 杂交杨的品系, 属于杨柳科杨属黑杨派成员。欧美杨细菌性溃疡病是近年来速生杨上新发生的病害, 发病初期树皮轻微开裂, 流出白色酸臭汁液, 随后树皮迅速腐烂降解, 危害严重的会导致树木死亡。贺伟等人报道, 2005 年在河南省濮阳市首次发现欧美杨细菌性溃疡病害^[1]。2006 年, 山东省菏泽市林业局观察到了该病害在菏泽大面积的发生和危害。在随后几年里, 在天津市、河北省南部和宁夏回族自治区中卫市也陆续观察到了该病害的

危害。Li 等人研究证实该病害是由细菌新物种 *Lonsdalea populi* (Tóth et al. 2013) Li et al. 2017 侵染引起的^[2-3]。

欧美杨细菌性溃疡病是广发性病害, 在欧洲也有该病害发生和危害的报道。据 Berruete 等人报道, 他们 2002 前后在西班牙欧美杨杂交杨上首次观察到了该病害发生和危害^[4]。匈牙利人 Tóth 在 2005 年前后在匈牙利的杂交杨上观察到该病害危害^[5]。2017 年, Abelleira 等人在葡萄牙杂交杨上也发现了欧美杨细菌性溃疡病^[6]。在寄主方面, 在柳树上也有该病害的发生和危害的报道。Li 等人报道, 2017 年在菏泽的旱柳 (*Salix matsudana*) 上发

收稿日期: 2020-04-08 修回日期: 2020-08-12

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (CAFYBB2017QC004)

* 通讯作者: 李永, 副研, lyx78@126.com

现了与欧美杨细菌性溃疡病症状类似的病害,并证明该病害也是由 *L. populi* 侵染引起^[7]。目前,柳树细菌性溃疡病主要在山东省菏泽市和宁夏回族自治区中卫市发生和危害,国外尚无相关报道。

目前,欧美杨细菌性溃疡病在我国主要分布在河南省、山东省、河北省和宁夏回族自治区四省市自治区的部分地区大面积发生和危害,据菏泽市林业局统计,菏泽市 2007 年有 3 万公顷杨树发生该病害,最严重的地块发病率高达 70%,对我国杨树人工林造成了重大威胁^[8]。调查显示,欧美杨细菌性溃疡病菌的自然寄主有中林 46 杨、107 杨、2025 杨、中荷 1 号杨和旱柳。在寄主范围和抗性研究方面,郭利民等人利用离体枝条接种的方法研究了中林 46 杨、旱柳、毛白杨、2025 杨、107 杨、金丝柳的抗病情况,他们认为中林 46 最感病、旱柳和毛白杨感病,而 2025 杨,107 杨,金丝柳抗病^[9]。在欧美杨抗性品种的筛选方面尚无相关报道。

酚类物质被认为是一类具有真菌和细菌活性的抗性物质,在植物体内广泛存在^[10]。张云霞等人发现在黑腐病菌侵染过程中,酚类物质积累与木质素含量增加在植物抗性机制中发挥重要作用^[11]。在杨树抗病物质分析研究中,阳传和等人证明酚类化合物与杨树对真菌型溃疡病抗性显著相关^[12]。理永霞等人研究发现,没食子酸、儿茶酸、苯酚与杨树对真菌型溃疡病的抗性密切相关,香豆酸、对羟基苯甲酸、邻苯二酚、阿魏酸次之,苯甲酸关系不大^[13]。

本研究将开展柳属、栎属以及杨属黑杨派、白杨派、青杨派的杨树对欧美杨细菌性溃疡病菌 (*L. populi*) 抗性实验,明确该病原菌的寄主范围,并对该病原菌具有不同抗性的品系开展抗性物质分析,研究结果将为欧美杨细菌性溃疡病害的防治提供重要的技术支持,对我国欧美杨人工林的保护具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 试验地介绍

试验苗圃:位于河南省濮阳市林科院的实验林场场内 (115°05'E, 35°53'N)。苗圃占地面积 15 亩,树龄为 3~6 年,其中包括美洲黑杨、欧美杂交杨品系、欧洲黑杨、毛白杨和三倍体毛白杨品系、青杨派品系以及柳属品系,株行距为 1 m × 2 m。

栎属接种实验地点位于北京市海淀区中国林业科学研究院后山 (116°14'E, 40°0'N) 的柏树混交

林,优势树种为柏树,其它树种包括栓皮栎、蒙古栎、桑树、酸枣等植物。

1.2 树种选择

接种树种的选择时,我们重点考虑杨柳科的杨属和柳属的种类或品系,共计选取了 50 个杨柳品系,其中包括黑杨派 35 个品系、白杨派 4 个品系、青杨派 7 个品系、柳属 4 个种 (品种) 和小美旱杨 (杨柳杂交杨),具体品系名称见表 1 和表 2。栎属的栓皮栎、蒙古栎也选为了接种材料。栎属干部溃疡病是由 *Lonsdalea quercina* (Hildebrand and Schroth 1967) Brady et al. 2012 引起的,该菌与本研究的杨树细菌性溃疡病的遗传关系较近,2017 年前它们均属于 *L. quercina*,因此栎属也有可能是该病原菌的潜在寄主。

1.3 田间接种实验

该病害自然发病时间为每年 4 月底—10 月底,我们选择 6—8 月开展接种实验以提高实验的重复性。本研究开展了连续两年的田间接种实验,分别于 2015 年 8 月和 2016 年 7 月份,在濮阳市林科院苗圃,每个品系随机选取 3 株健康杨树用于接种实验。接种前,选取 2 株致病性较强的病原菌用于实验,并将这 2 株病原菌转接到 TSA 培养皿中 30℃ 培养 24 小时,为恢复病原菌的致病力,挑取单菌落再连续转接培养 3 代。第 4 代培养物用无菌水稀释为 10^8 CFU·mL⁻¹ 菌悬液备用。无菌脱脂棉用无菌水浸泡,以备接种使用。

田间接种方法:75% 酒精表面消毒,用无菌手术刀在树皮上划十字形伤口,然后向伤口中注 50 μL 菌悬液,覆上浸过水的脱脂棉,并用保鲜膜包裹保湿;每个品系接种 3 棵树,每棵树接种 3 个点 (包括 2 个病原菌和 1 个对照),对照为浸过无菌水的脱脂棉。

栎属接种:2020 年 5 月底—6 月初,分别开展连续两次接种实验,接种树种为栓皮栎、蒙古栎。选取直径 1 cm 左右枝干作为接种材料,接种方法同上。

1.4 抗性植株的抗性鉴定

根据 2015 年田间初步鉴定结果,2016 年,研究团队截取表现高度抗性植株的一年生枝段扦插扩繁,并在濮阳欧美杨细菌性溃疡病的重灾区开展了试种实验,目前已获得 4 年生抗性杨 50 余株,2~3 年生 1 000 余株,生长性状良好。

2018 和 2019 年 8 月,连续两年利用人工接种

表 1 病原菌寄生及危害情况
Table 1 host range and disease occurrence

属 Genus	种类 species	抗病情况 Resistance	危害程度 Damage
杨属 <i>Populus</i>	白杨派		
	毛白杨 <i>P. tomentosa</i> Carr	偶然感病	严重
	银白杨 <i>P. alba</i> L.	抗病	轻
	毛新杨 <i>P. tomentosa</i> × <i>P. bolleana</i> Carr	抗病	—
	毅杨/三倍体毛白杨	偶然感病	严重
	黑杨派		
	美洲黑杨 <i>P. deltoides</i>	大部分为高感	严重
	欧洲黑杨 <i>P. nigra</i> L.	高抗	—
	欧美杂交杨 <i>P.</i> × <i>canadensis</i>	大部分为高感	严重
	青杨派		
	小叶杨 <i>P. simonii</i> Carr	抗病	轻
	16-12	高抗	—
	16-13	高抗	—
	16-14	高抗	—
	16-15	高抗	—
	16-16	高抗	—
	16-17	高抗	—
柳属 <i>Salix</i>	小美早 <i>P. simonii</i> × (<i>P. pyramidalis</i> + <i>Salix matsudana</i>) cv.'Poplaris')	高抗	—
	旱柳 <i>S. matsudana</i> koidz	高感	严重
	垂柳 <i>S. babylonica</i> L.	高抗	—
	金丝垂柳 <i>Salix</i> × <i>aureo-pendula</i> Cl.	高抗	—
	杂交柳(竹柳)	高抗	—
栎属 <i>Quercus</i>	栓皮栎 <i>Q. variabilis</i> Bl.	高抗	—
	蒙古栎 <i>Q. mongolica</i> Fisch. ex Ledeb	高抗	—
	塔形英国栎	高抗	—

注:感谢中国林业科学研究院林业研究所苏晓华老师团队免费提供本研究16系列青杨(12-17)

Note: acknowledge Dr. Su Xiaohua who supplied the *Populus cathayana* variety16 (12-17) free

的方法对该杨树进行抗性鉴定。随机选取 6 棵健康植株作为接种对象, 每株接种 3 个点, 分别接种 2 株强致病力病原菌和 1 个对照, 接种方法同上。

1.5 发病情况调查

根据前期接种实验的经验和病害发生的规律, 我们设计的调查方法如下: 接种 3 天后去掉保鲜膜, 第 7 天时调查第一次, 每隔 7 天观察记录一次, 共观察 3 次。调查时, 记录发病与否, 测量和记录发病植株病斑长度和宽度。根据发病病斑的大小将寄主抗病性分为 5 个等级, 即高抗 (< 1 cm)、抗病 (1~5 cm)、感病 (5~10 cm)、中感 (10~15 cm)、高感 (> 15 cm)。

1.6 抗性活性物质分析

抗性物质分析实验中, 抗病品种选用豫抗 1 号杨和 107 杨, 高感病品种为 2025 杨和中林 46 杨, 每个品系采集 2 年生枝条 5 段 (5 个重复), 每段随机剥下 3 小块树皮, 用枝剪剪成小组织块置于研钵中, 倒入液氮研磨碎, 称取 1.0 g 磨碎样品置于在 100 mL 三角瓶中, 加入 25 mL 甲醇超声提取 30 min, 然后用 10 000 rpm 离心 5 min, 取上清液备用。配好没食子酸、儿茶素、邻苯二酚等 12 种化学标准品的标准液备用, 具体名称见表 2。

为了解杨树染病前后的抗性物质含量变化, 本实验选取豫抗 1 号杨 (高抗) 和 2025 杨 (高感)

表 2 黑杨派品系抗性调查表

Table 2 Resistance of *Populus aigeiros* varieties

种类 Species	品种名称 Varieties	抗/感病 Resistance/ susceptibility	品种名称 varieties	抗/感病 Resistance/ susceptibility
美洲黑杨 <i>P. deltoides</i>	131	抗病	03-59	抗病
	2025	高感	01-233	中感
	313	高感	03-47	中感
	山599	中感	02-218	感病
	02-212	抗病	02-209	中感
	中荷1号	高感	03-34	抗病
	03-171	中感	01-277	感病
	03-62	感病	02-9	中感
	16-06	抗病	16-09	高感
	16-07	感病	16-10	高抗
欧洲黑杨 <i>P. nigra</i>	16-08	中感	16-11	感病
	16-01	高抗	16-04	高抗
	16-02	高抗	16-05	高抗
	16-03	高抗	—	—
欧美杂交杨 <i>P. × eur-american</i>	豫抗1	高抗	2001	高感
	107	感病	天演杨	中感
	140-9	中感	健杨94	中感
	中林46杨	高感	01杨	中感

注:感谢中国林业科学研究院林业研究所苏晓华老师团队免费提供本研究16系列黑杨品系(1-11)。
Note: We acknowledge Dr. Su Xiaohua who supplied the aigeiros variety 16 (12-17) free.

作为实验材料,用手术刀片将2年生的健康枝段划出多条伤痕,伤口间距尽量小,然后将病原菌悬浮液接种到伤口,并用保鲜膜包裹保持湿度,对照接种无菌水,为确保实验的准确性,本实验设5个重复。接种24小时后,将带有伤口的树皮取下按照上述方法粉碎,并提取抗性物质,然后对邻苯二酚、苯甲酸等7种含量较高的化合物进行了检测。

HPLC 条件: 色谱柱: Sunfire 4.6 × 250 mm 5 μm, 检测波长 254 nm。没食子酸、邻苯二酚、对羟基苯甲酸、儿茶素、香豆酸、阿魏酸、绿原酸、咖啡酸, 检测流速: 1 mL·min⁻¹, 流动相: 40% 甲醇, pH = 3.0; 香草酸、苯甲酸、水杨酸、肉桂酸, 检测流速: 0.8 mL·min⁻¹, 流动相: 60% 甲醇, pH = 3.0。

1.7 活性物质的抑菌实验

选取抗病与高感品系间差异明显的活性物质配成 0.2%、0.4% 和 0.8% 的水溶液备用(对微溶于水的物质,用前加热溶解)。病原细菌在 TSA 培养

皿上培养 24 h, 用无菌水洗脱并稀释成 10⁸ CFU·mL⁻¹ 菌悬液。吸取 200 μL 悬浮液置于 TSA 培养皿上涂匀, 然后将配置好的活性物质滴于已涂病原菌的培养皿上, 待液体吸收后倒置培养 24 h 观察记录实验结果。

2 结果与分析

2.1 寄主范围调查

接种实验结果显示, 黑杨派品种是易感品系, 而且发病程度较重(图 1A), 然而欧洲黑杨表现出高度抗病性, 其中美洲黑杨和欧美杂交杨均有一些的高感品系, 大部分品系接种后表现感病; 旱柳发病严重, 金丝柳表现出轻微溃疡症状(图 1E), 杂交柳、垂柳则不发病。研究还发现毛白杨及三倍体毛白杨则出现单植株发病情况(图 1F 和 G), 但是再次接种病菌时, 多次重复均未出现典型欧美杨细菌性溃疡病的症状, 这是非常有趣现象, 值得我们进一步研究。银白杨虽然表现为抗病, 但是也形成 0.5~0.8 cm × 0.7~0.9 cm 的病斑, 后期不再扩展。

青杨、小美旱杨、栎属植物表现为高度抗病性。在青杨派品系中, 除小叶杨表现出轻微的症状外(图 1C), 其它 6 个品系均表现为高度抗性。小美旱杨是青杨、新疆杨、旱柳的杂交品系, 它表现出对欧美杨细菌性溃疡病的高度抗病能力。而栓皮栎和蒙古栎均表现为高度抗病性(图 1D)。详细结果见表 1。

2.2 黑杨派抗病品种筛选及抗性鉴定

研究结果显示, 5 个欧洲黑杨品系均表现出高度抗性, 但它们生长较其它欧美杨慢。在美洲黑杨 22 个品系中, 16-11 杨表现为高度抗病, 品系 131 杨、03-59 杨、02-212 杨、03-34 杨、16-06 杨表现为抗病, 而 2025 杨、313 杨、中荷 1 号杨、16-09 杨表现为高度感病; 其它 12 个品系表现为中感和感病。在欧美杂交杨的 7 个品系均表现为感病状态, 中林 46 杨和 2001 杨表现为高度感病, 中度感病品系有 4 个, 107 杨表现为轻度感病, 详细实验结果见表 2。另外苗圃中发现 1 株欧美杨变异植株表现出了高度抗性, 命名为欧抗豫抗 1。

发现抗病植株后, 研究团队将抗病植株进行了扦插繁殖和抗病鉴定, 连续两年的实验数据一致证明该抗病植株具有高度抗病性。在第一次调查时, 接种点形成 0.4~0.5 cm × 0.5~0.8 cm 的病斑(图 1B), 之后两次调查不再扩展, 而且在第三次调查时, 接



A: 中林 46; B: 豫抗 1; C: 小叶杨; D: 栓皮栎; E: 旱柳; F: 毛白杨; G: 毅杨; H: CK

A: zhonglin46; B: Yukang1; C: *P. simonii*; D: *Q. varmbilis*; E: *S. matsudana*; F: *P. tomentosa*; G: Yiyang; H: CK;

图 1 接种实验症状图

Fig. 1 System of the trees inoculated with *L. populi*

种点已经开始愈合。说明该杨树对欧美杨细菌性溃疡病菌具有高度抗性。

2.3 抗性物质分析

本研究分析了抗、感病和高感的杨树品种的树皮 12 种化合物的含量, 化合物的含量见表 3。从表中可以看出, 邻苯二酚、苯甲酸、绿原酸在 4 个品系杨树树皮中的含量存在一定差异, 这 3 种化合物在抗病、感病的品种杨树中含量差异不明显, 但它们含量比高感杨树品系 (中林 46 杨和 2025 杨) 高 15~20%。除了以上 3 种物质, 儿茶素的含量也较高, 在 $50\sim 61\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ 之间, 但是 4 个样品中含量相似。其它 8 种化合物的含量较低, 如香草酸的含量在 $5\sim 15\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ 之间, 而没食子酸、对羟基苯甲酸、香豆酸、阿魏酸、肉桂酸、水杨酸等 6 个化合物的含量 $< 5\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$, 而 4 个品系的样品中均未检测到咖啡酸。因此我们推测树皮中邻苯二酚、苯甲酸、绿原酸与杨树抗病性有一定关系。

2.4 染病前后抗性物质变化

结果显示, 抗病杨接种病原菌 24 h 后, 邻苯

二酚和儿茶素含量迅速升高, 其含量分别增加了 51.7% 和 32.6%, 而香草酸含量有所下降, 下降 8%, 而苯甲酸和绿原酸等 4 种化合物均没有明显变化 (见表 4)。在高感杨树树皮中, 邻苯二酚和儿茶素的含量没有明显增加, 香草酸含量有增加的趋势, 增加 7.5%, 其它的化合物含量低, 没有发现明显变化趋势 (见表 4)。因此我们认为病原菌的侵染导致抗病杨合成邻苯二酚和儿茶素的数量增加, 说明这两种化合物在杨树与病原菌的互作中起到一定的作用。

2.5 活性物质抑菌实验

邻苯二酚、儿茶素是树皮样品中含量较高的化合物, 而且这两个化合物在病菌侵染过程中其含量明显增加, 因此本研究开展这 2 个化合物的抑菌活性实验。结果显示, 0.8% 的邻苯二酚和儿茶素都能形成抑菌圈 (图 2), 邻苯二酚的抑菌圈较大直径 1.2~1.3 cm (图 2A), 而 0.8% 儿茶素形成抑菌圈小, 抑菌效果可能没有邻苯二酚效果好 (图 2B)。

表 3 树皮中 12 种化合物含量

Table 3 Amount of 12 compound in tree bark

化学名称/品种/(mg·100 g ⁻¹) Chemical name/variety	豫抗1 Yukang 1	107	中林46 zhonglin 46	2025
没食子酸	3.14 ± 0.45	1.79 ± 0.38	2.38 ± 0.17	2.24 ± 0.06
邻苯二酚	132.62 ± 4.22	115.46 ± 6.05	56.51 ± 4.14	65.82 ± 3.47
对羟基苯甲酸	1.65 ± 0.37	1.40 ± 0.12	1.11 ± 0.21	0.77 ± 0.06
香豆酸	1.32 ± 0.51	1.24 ± 0.34	1.30 ± 0.28	0.66 ± 0.05
香草酸	2.28 ± 0.34	13.99 ± 2.41	4.55 ± 1.03	7.11 ± 2.04
阿魏酸	0.72 ± 0.32	1.02 ± 0.46	0.59 ± 0.25	0.00
苯甲酸	60.23 ± 3.08	56.49 ± 4.10	5.63 ± 0.68	10.52 ± 1.42
儿茶素	37.07 ± 3.67	49.91 ± 5.13	41.40 ± 3.82	46.63 ± 2.36
肉桂酸	1.03 ± 0.35	3.03 ± 0.68	0.94 ± 0.12	0.00
水杨酸	0.57 ± 0.04	0.45 ± 0.11	1.32 ± 0.28	0.00
绿原酸	36.43 ± 4.15	40.43 ± 3.82	18.83 ± 2.74	20.52 ± 3.94
咖啡酸	0.00	0.00	0.00	0.00

注: 数据 = 平均值 ± SE

Note: Data = Average ± SE

表 4 染病前后树皮中 7 种化合物含量变化表

Table 4 Amount of 7 compound in tree healthy and infected bark

化学名称/品种/(mg·100 g ⁻¹) Chemical name/variety	豫抗1号 Yukang 1	豫抗1号CK	中林46 zhonglin 46	中林46CK
没食子酸	0.00	0.00	0.00	0.00
邻苯二酚	145.59 ± 6.02	95.96 ± 3.43	93.02 ± 6.42	96.33 ± 5.32
对羟基苯甲酸	0.00	0.00	0.00	0.00
香草酸	6.68 ± 1.02	7.26 ± 1.37	16.22 ± 3.49	15.09 ± 0.51
苯甲酸	14.25 ± 0.88	14.89 ± 1.01	6.94 ± 0.43	7.31 ± 1.12
儿茶素	139.98 ± 5.92	101.05 ± 6.34	97.72 ± 4.58	96.14 ± 5.01
绿原酸	29.63 ± 3.24	30.22 ± 1.25	21.87 ± 2.81	23.12 ± 1.28

注: 数据 = 平均值 ± SE

Note: Data = Average ± SE



标注: A: 邻苯二酚; B: 儿茶素。

Note: A: catechol; B: catechin.

图 2 两种化合物的抑菌实验结果

Fig. 2 Inhibition tests of the two compound

3 讨论

欧美杨细菌性溃疡病是 2000 年前后, 在欧亚

大陆上发现的由新物种 *L. populi* 引起的黑杨干部新病害, 表现为典型溃疡症状, 危害严重, 病斑长度可达 3 米。2006—2010 年期间, 该病害在我国危害极其严重, 在河南省北部、山东省菏泽市、济宁市发病面积巨大, 发病严重的地块发病率高度 60%~70%。据调查, 该病害发病率高的地块主要种植感病品种, 如在河南省濮阳市人工林的主载品系为中林 46 杨和 107 杨, 一般情况下为两个品系的混交林; 在菏泽市则为中荷 1 号杨纯林或者中荷 1 号杨和 107 杨的混交林。调查还发现中林 46 杨与 107 杨混交栽培可促进该病害在 107 杨的发生和危害。本研究中已筛选出了欧美杨细菌性溃疡病的高感和抗性品系, 其中包括一些生长快抗性好的品系, 因此建议在欧美杨细菌性溃疡病疫区尽量种

植抗病品系, 同时避免与高感品系混交种植。种植抗性品系是欧美杨细菌性溃疡病防治最经济、有效的防治方法。

对寄主适应性能力方面, 欧美杨细菌性溃疡病菌表现出很强的变异适应能力。2016年前, 欧美杨细菌性溃疡病菌的自然寄主为黑杨和欧美杂交杨。Li 等人报道, 在 2016 年和 2017 年, 分别在山东菏泽和宁夏中卫市发现柳树细菌性溃疡病, 并证实该病害病原为欧美杨细菌性溃疡病菌 [7]。目前柳树细菌性溃疡病主要发生在山东省菏泽市和宁夏回族自治区中卫市。欧美杨细菌性溃疡病菌用 10 多年的时间成功的实现了寄主转移和危害, 说明该病菌具有较强的寄主适应能力。

本研究还发现一个非常有意思的现象, 在人工接种欧美杨细菌性溃疡病菌的情况下, 毛白杨和三倍体毛白杨都有发病个体, 出现偶然发病现象, 而且表现出欧美杨细菌性溃疡病的典型症状, 危害非常严重, 能形成 5~10 cm 长的病斑, 而且导致大面积树皮腐烂。然而, 第二年用同样的条件和菌株再次接种该发病树时, 并未表现症状, 目前尚不明确是什么因子阻止病原菌入侵和致病。郭利民等人研究认为欧美杨细菌性溃疡病菌可以侵染三倍体毛白杨的离体枝段^[9]。因此我们认为欧美杨细菌性溃疡病菌具有潜在侵染白杨派杨树的能力。

本研究中我们虽然发现美洲黑杨和欧美杂交杨中有极少数高度抗病植株和抗病品系, 但大部分品系为感病品系。调查还发现, 生长快的杨树品系抗性普遍差, 很多品系表现出了高度感病状态。欧洲黑杨对欧美杨细菌性溃疡病具有高度抗性特征, 但它较感病杨生长慢。那么为什么美洲黑杨和杂交杨有如此多的感病和高度感病品系呢? 可能是育种学家在杨树选育过程中着重关注了杨树快速生长特性, 而忽视或遗失了杨树本身的抗性基因。因此我们建议育种学家们在品种选育时, 把抗逆性也作为一项重要的需要关注的指标。

在杨树的抗性物质检测方面, 本研究检测了 12 种在其它植物上已报的抗菌活性物质, 发现欧美杨细菌性溃疡病菌侵染杨树时, 树皮中的邻苯二酚和儿茶素含量会增加, 说明这两种物质与杨树抵抗病菌的入侵有着密切关联, 而且实验证实这两种化合物对欧美杨细菌性溃疡病具有抑菌效果, 因此推测这两种化合物在杨树抗欧美杨细菌性溃疡病中可能起着重要的作用。在杨树抗性机制研究方面还

有其它未知的活性物质需要进一步研究。除此以外, 抗性基因、激素等方面也是研究的热点, 刘振阳等 (2015) 研究认为抗病品种‘毛白杨’对欧美杨细菌性溃疡病的抗性是通过病菌诱导了基因 *PR1-1*、*PR1-2*、*NPR1-1*、*NPR1-2*、*TGA1*、*TGA2*、*MYC2-1*、*MYC2-2* 的上调表达以及基因 *JAZ1*、*COI1-1*、*COI1-2* 的下调表达, 开启了 SA 和 JA 信号转导通路的结果, 基因层面的研究也仅此一篇报道, 因此也需要进一步研究^[14]。

4 结论

杨柳科植物是欧美杨细菌性溃疡病菌的主要寄主, 杨属黑杨派中除欧洲黑杨对该病菌具有高度抗性外, 美洲黑杨、欧美杂交杨的大部分品系均为高度感病和感病品种; 本研究中仅有 16-10 杨和豫抗 1 号表现为高抗病; 毛白杨和三倍体毛白杨也具有自然发病的风险; 除小叶杨外, 本研究选用的青杨派品系均为高度抗性; 柳属中旱柳属于高感病种类; 病原菌侵染能够引起抗病杨树皮中的邻苯二酚、儿茶素含量的迅速增加, 说明两种化合物与寄主抗性密切相关。本研究中明确了高抗和高感杨树品系, 为了有效防治欧美杨细菌性溃疡病, 我们建议速生杨栽培区域改种抗病品种, 同时避免与高感病品种混交种植。

参考文献:

- [1] 贺伟, 任飞娟, 郭利民, 等. 欧美杨溃疡病的病原鉴定[J]. 林业科学, 2009, 46 (6): 104-108.
- [2] Li Y, He W, Ren F J, et al. A canker disease of *Populus euramericana* in China, caused by *Lonsdalea quercina* subsp. *populi*[J]. Plant Dis, 2014, 98: 368-378.
- [3] Li Y, Xue H, Guo L M, et al. Elevation of three subspecies of *Lonsdalea quercina* to species level: *Lonsdalea britannica* sp. nov., *Lonsdalea iberica* sp. nov. and *Lonsdalea populi* sp. nov.[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2017, 67(11): 4680-4684.
- [4] Berruete I M, Cambra M A, Collados R, et al. First Report of Bark Canker Disease of Poplar Caused by *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* in Spain[J]. Plant Dis, 2016, 100: 2159-2159.
- [5] Tóth T, Lakatos T, Koltay A. *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* subsp. nov., isolated from bark canker of poplar trees[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2013, 63: 2309-2313.
- [6] Abelleira A, Moura L, Aguin O, et al. First Report of *Lonsdalea populi* Causing Bark Canker Disease on Poplar in Portugal[J]. Plant Dis, 2019, 103: 2121.
- [7] Li Y, Wang H M, Chang J P, et al. A New Bacterial Bark Canker

- Disease of *Salix matsudana* Caused by *Lonsdalea populi* in China[J]. *Plant Dis*, 2019, 103: 2467-2467.
- [8] 李 永, 朴春根, 贺 伟, 等. 欧美杨新型溃疡病病株与健株干部树皮中真、细菌优势种群分析[J]. *林业科学研究*, 2013, 26 (1): 41-45.
- [9] 郭利民, 常聚普, 贺 伟, 等. 欧美杨溃疡病田间发生规律研究初报[J]. *林业实用技术*, 2012 (10): 38-40.
- [10] Albert N W, Lewis D H, Zhang H, *et al.* Light-induced vegetative anthocyanin pigmentation in *Petunia* [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60: 2191-202.
- [11] 张云霞, 曾爱松, 宋立晓, 等. 与甘蓝黑腐病抗病相关的酚类物质测定[J]. *扬州大学学报: 农业与生命科学版*, 2015, 36 (1): 92-96.
- [12] 阳传和. 树皮内酚类物质的含量及苯丙氨酸解氨酶的活性与杨树溃疡病的关系[J]. *林业科学*, 1989 (4): 511-515.
- [13] 理永霞, 吕 全, 梁 军, 等. 感、抗病杨树种类接种溃疡病菌后酚类物质的变化[J]. *中国森林病虫*, 2011, 30 (5): 1-10.
- [14] 刘振阳, 苏衍修, 左 涛, 等. 溃疡病不同抗性杨树SA和JA信号转导相关基因的差异表达分析[J]. *中国农学通报*, 2015, 31 (14): 156-163.

Investigation and Analysis on Host Species and Their Resistance Substances to Bacterial Bark Canker of *Populus × euramericana*

LI Yong¹, CHANG Ju-pu², GUO Li-min², SUN Shang¹, YANG Xu-qi², PIAO Chun-gen¹

(1. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

2. Puyang Academy of Forestry Sciences, Puyang 457000, He'nan, China)

Abstract: [Objective] To investigate and analyze the host species of bacterial canker of *Populus × euramericana*, the disease-resistant varieties and the possible disease-resistant substances they contain. [Method] The host of the pathogen and the resistant varieties were determined by field investigation and inoculation tests. The content of active substances in the bark of disease-resistant and susceptible varieties was analyzed by HPLC. [Result] The hosts of bacterial pathogen of *P. × euramericana* canker are *P. deltoides*, *P. × euramericana* and *Salix matsudana*. *P. × euramericana* cl. 'Zhonglin 46', *P. deltoides* cl. '2025', *P. × euramericana* cv. '2001', *P. deltoides* cl '313', *P. deltoides* 'Zhonghe-1' and *P. deltoides* '16-09' were highly susceptible to the bark canker disease; *P. × euramericana* 'Yukang 1' and *P. deltoides* '16-10' were highly resistant varieties, *P. deltoides* '131', *P. deltoides* '03-59', *P. deltoides* '02-212' and *P. deltoides* '03-34' were resistant varieties. Hybrid willows and *Salix babylonica* are resistant to the pathogen, and *Salix × aureo-pendula* can be affected, but do not cause serious disease. The HPLC analysis showed that the contents of catechol, benzoic acid and chlorogenic acid in the bark of resistant and highly susceptible poplar varieties were significantly different. The catechol and catechin increased when the hosts were infected by *Lonsdalea populi*. [Conclusion] In this study, the host species of bacterial canker of *P. × euramericana* are determined, and resistant and highly susceptible poplar varieties are screened. It is showed the catechol and catechin are important compound for host to defense the pathogen infection. The results will be helpful to the control of the bacterial disease of poplar.

Keywords: *Populus × euramericana*; canker; resistant substances; bacteria

(责任编辑: 崔 贝)