

15 种植物病原真菌培养滤液除草活性初步筛选

白莹莹^{1,2}, 魏松红^{1*}, 刘大旻³, 尹晓东¹, 刘冰¹, 何志勇¹

(1. 沈阳农业大学, 沈阳 110161; 2. 辽宁省鞍山市铁东区绿化所 114000; 3. 辽宁省鞍山市绿化处 114000)

摘要 通过 15 种植物病原真菌的培养滤液对草坪杂草稗草、反枝苋、蒲公英、车前、苘麻进行种子萌发抑制试验, 对其除草活性进行了初步研究。结果表明: 玉米小班病菌、黄瓜黑星病菌的培养滤液对稗草、蒲公英、车前都表现出显著的除草活性; 玉米大班病菌的培养滤液仅对稗草和蒲公英表现显著的除草活性; 烟草赤星病菌的培养滤液仅对车前和苘麻表现了显著的除草活性。安全试验表明: 烟草赤星病菌的培养滤液对黑麦草和早熟禾种子的萌发、芽和根的生长表现安全; 黄瓜黑星病菌的培养滤液仅对黑麦草种子的萌发、芽和根的生长表现安全。

关键词 病原真菌; 培养滤液; 除草活性

中图分类号 S 482.49

Screening of herbicidal components from fifteen plant pathogenic isolates

Bai Yingying^{1,2}, Wei Songhong¹, Liu Damin³, Yin Xiaodong¹, Liu Bing¹, He Zhiyong¹

(1. Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; 2. Anshan Tiedong Virescence Management Station, Liaoning 114000, China; 3. Anshan Virescence Station, Liaoning 114000, China)

Abstract The herbicidal activity of the culture filtrates from fifteen plant pathogens was tested with five lawn weed species, *Echinochloa colonum*, *Amaranthus retroflexus*, *Taraxacum mongolicum*, *Plantago asiatica* and *Abutilon theophrasti* in this study. The results of seed germination experiments showed that *Bipolaris maydis* and *Cladosporium cucuerinum* strongly inhibited *E. colonum*, *T. mongolicum* and *P. asiatica*, while *Exserohilum turcicum* obviously repressed *E. colonum*, *T. mongolicum*. *Alternaria alternate* had marked inhibiting effect on *P. asiatica* and *A. theophrasti*.

Key words pathogenic isolate; culture filtrate; herbicidal activity

草坪杂草不仅影响草坪美观, 对草坪的使用价值也有很大危害。利用植物病原真菌防除杂草是目前生物除草的一个研究热点, 采用这种方法防除草坪杂草选择性高, 对目标杂草以外的草坪草影响小, 环境负效应少, 安全性高, 符合农业可持续发展的要求, 也符合植物保护中实行以生物防治为主的综合治理原则, 已受到世界各国的高度重视^[1-5]。到目前为止, 已有约 80 种不同的侵染生物种被研究, 防除约 70 种杂草^[6]。在未来除草剂发展领域中, 利用植物病原真菌防除杂草具有广阔的前景。如由美国伊利诺伊 Abbott 实验室登记注册的生物除草剂 Devine, 是棕榈疫霉(*Phytophthora palmivora*) 制剂, 用于柑橘园进行土壤处理防治莫伦滕(*Morreniaod orata*)^[6]等。本文对 15 种植物病原真菌的培养滤液的除草活性进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

玉米弯孢病菌(*Curvularia lunata*)、玉米小班病菌(*Bipolaris maydis*)、玉米大班病菌(*Exserohilum turcicum*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、番茄叶霉病菌(*Fulvia fulva*)、苹果轮纹病菌(*Phylospora piricola*)、葡萄炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、谷子白发病菌(*Sclerospora graminicola*)、甜瓜蔓枯病菌(*Mycospherella melonis*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、黄瓜黑星病菌(*Cladosporium cucuerinum*)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternate*)。

1.2 供试草坪杂草种子

稗草(*Echinochloa colonum*)、反枝苋(*Amaranthus retroflexus*)、蒲公英(*Taraxacum mongolicum*)、车前(*Plantago asiatica*)、苘麻(*Abutilon theophrasti*)。

1.3 供试草坪草种子

早熟禾(*Poa pratensis*)、黑麦草(*Lolium perenne*)。

1.4 供试培养基

PD 培养液:马铃薯、葡萄糖。

PDA 培养基:马铃薯、葡萄糖、琼脂。

1.5 菌株培养滤液制备

将各菌株扩繁,待长满皿后,打取 $d=0.6\text{ cm}$ 的菌片,分别接种于装有 PD 培养液的 250 mL 三角瓶中,每瓶接种 5 片,置 28℃ 恒温,140 r/min 振荡培养,培养时间根据菌种不同在 5~15 d 变化。在无菌条件下,先用 4 层纱布过滤去掉菌丝体,然后再用定性滤纸(中速)过滤,得到无菌培养滤液,备用^[7]。

1.6 供试菌株培养滤液除草活性测定

取垫有滤纸的培养皿,灭菌后在无菌条件下向培养皿中放入 20 粒种子,滴加培养滤液直到种子浸湿,以滴加水做对照,每种处理重复 3 次。置于 28℃ 光照培养箱中培养,培养时间依据种子不同在 7~12 d 变化。记录种子萌发数量,计算萌发抑制率,测量萌发后种子的根、茎长,用 DPS 数据处理系统 Duncan 新复级差法分析 5% 差异显著性。

1.7 供试菌株培养滤液的安全性试验

供试草坪草为早熟禾、黑麦草,按照 1.6 的方法进行供试菌株的安全性试验。

2 结果与分析

2.1 菌株培养滤液对草坪杂草种子萌发的抑制作用

由表 1 可看出,15 种供试病原真菌的培养滤液对 5 种草坪杂草种子萌发的抑制差异显著,番茄灰霉病菌的培养滤液对车前种子萌发抑制率达到 100%,而对反枝苋种子萌发抑制率只有 31.6%。小麦赤霉病菌的培养滤液对车前种子萌发抑制率只有 31.0%,而对反枝苋种子萌发的抑制率却达到 100%。番茄灰霉病菌的培养滤液、苹果轮纹病菌的培养滤液和稻瘟病菌的培养滤液对苘麻种子,小麦赤霉病菌的培养滤液对稗草种子都有刺激萌发的作用。烟草赤星病菌的培养滤液对车前和苘麻种子萌

发的抑制作用很强,抑制率均达到 100% 和 99.8%。玉米小班病菌对稗草、车前、蒲公英、反枝苋种子萌发的抑制作用都很强,而对苘麻种子萌发的抑制作用却不明显。苹果轮纹病菌的培养滤液对 5 种草坪杂草种子萌发的抑制作用都不明显。

表 1 不同病原真菌滤液对 5 种杂草种子萌发的抑制作用¹⁾

病原真菌	校正抑制率/%				
	稗草	车前	苘麻	蒲公英	反枝苋
番茄灰霉菌	44.6 e	100.0 a	+	62.9 cde	31.6 h
番茄叶霉菌	30.5 g	58.2 d	75.5 c	96.5 a	92.1 b
番茄早疫病菌	37.9 f	76.0 c	97.6 a	43.5 fgh	87.8 bc
苹果轮纹菌	26.0 h	59.4 d	+	30.4 h	82.7 cd
烟草赤星菌	50.2 d	100.0 a	100.0 a	84.5 ab	72.7 e
葡萄炭疽菌	33.3 g	97.4 a	93.8 b	57.2 def	55.2 f
小麦赤霉菌	+	31.0 e	42.8 e	47.8 efg	100.0 a
玉米弯孢菌	22.5 hi	100.0 a	13.0 i	62.6 cde	100.0 a
玉米小班菌	96.5 ab	100.0 a	36.9 f	100.0 a	100.0 a
玉米大班菌	94.1 b	74.7 c	20.7 g	100.0 a	46.4 g
谷子白发菌	25.5 h	100.0 a	42.9 e	98.4 a	80.1 d
甜瓜蔓枯菌	13.5 j	89.9 b	100.0 a	78.9 bc	90.0 b
黄瓜枯萎菌	89.3 c	49.2 de	92.4 b	99.3 a	55.3 f
黄瓜黑星菌	100.0 a	100.0 a	47.9 d	99.0 a	57.2 f
稻瘟病菌	44.8 e	100.0 a	+	65.8 cd	31.9 h

1) 同列相同小写字母表示 5% 水平差异不显著;“+”为培养滤液对杂草种子有刺激萌发的作用;5 种杂草在清水对照中萌发率分别为 80.6%、65.5%、83.3%、64.9%、94.7%。

对稗草种子而言,黄瓜黑星病菌的培养滤液对其萌发的抑制率高达 100%,玉米小班病菌、玉米大班病菌的培养滤液对其萌发也有显著的抑制作用,抑制率分别为 96.5%、94.1%;番茄灰霉病菌、烟草赤星病菌、玉米弯孢病菌、玉米小班病菌、谷子白发病菌、黄瓜黑星病菌、稻瘟病菌病菌的培养滤液对车前种子萌发的抑制率都达到 100%;烟草赤星病菌、甜瓜蔓枯病菌的培养滤液对苘麻种子萌发的抑制率达 100%;番茄早疫病菌对苘麻种子萌发的抑制率达 97.6%;玉米小班病菌、玉米大班病菌、谷子白发病菌、黄瓜枯萎病菌、黄瓜黑星病菌、番茄叶霉病菌的培养滤液对蒲公英种子萌发的抑制效果均显著;小麦赤霉病菌、玉米弯孢病菌、玉米小孢病菌的培养滤液对反枝苋种子萌发抑制率均达到 100%。

2.2 菌株培养滤液对不同草坪杂草种子芽和根生长的抑制作用

由表 2 可以看出,不同病原菌菌株的培养滤液对不同草坪杂草种子芽和根的生长抑制情况不同,玉米大班病菌、黄瓜枯萎菌的培养滤液对稗草种子芽和根生长的抑制作用显著;小麦赤霉病菌、玉米弯孢病菌、玉米小班病菌、玉米大班病菌的培养滤液对反枝苋种子芽和根的生长抑制作用较明显;玉米小

斑病菌、谷子白发病菌、黄瓜蔓枯病菌、黄瓜黑星病菌、稻瘟病菌的培养滤液对蒲公英种子芽和根的生长有显著的抑制作用;番茄灰霉病菌、烟草赤星病菌、玉米弯孢病菌、玉米小班病菌、谷子白发病菌、黄瓜黑星病菌、稻瘟病菌的培养滤液对车前种子芽和

根的生长抑制作用也很强;烟草赤星病菌、葡萄炭疽病菌、稻瘟病菌株的培养滤液对苘麻种子芽和根的生长抑制作用较明显。而番茄叶霉病菌的培养滤液对反枝苋种子的根、苹果轮纹病菌对蒲公英种子的芽有一定刺激生长作用。

表 2 不同病原真菌滤液对 5 种杂草种子芽和根生长的抑制作用

病原真菌	稗草		反枝苋		蒲公英		车前		苘麻	
	芽/cm	根/cm	芽/cm	根/cm	芽/cm	根/cm	芽/cm	根/cm	芽/cm	根/cm
番茄灰霉菌	0.48 bc	0 d	0.53 a	1.74 a	0.09 b	0.16 abc	0.00 d	0.00 c	0.05 c	0.07 bc
番茄叶霉菌	0.72 ab	0.06 d	0.24 bc	0.15 d	0.20 ab	0.09 bcd	0.11 bc	0.09 ab	0.01 c	0.00 c
番茄早疫菌	0.32 cd	0.09 d	0.26 bc	0.64 cd	0.13 b	0.18 ab	0.10 bc	0.04 bc	0.02 c	0.04 c
苹果轮纹菌	0.25 cde	1.00 ab	0.13 bc	0.05 d	0.45 a	0.01 d	0.13 b	0.05 bc	0.05 c	0.05 c
烟草赤星菌	0.29 cde	0.35 cd	0.20 bc	0.06 d	0.20 ab	0.06 cd	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 c
葡萄炭疽菌	0.82 a	0.02 d	0.22 bc	0.13 d	0.16 ab	0.21 a	0.00 d	0.13 a	0.00 c	0.00 c
小麦赤霉菌	0.19 cde	0.20 d	0 c	0 d	0.13 b	0.04 d	0.05 cd	0.03 bc	0.12 b	0.11 bc
玉米弯孢菌	0.34 cd	0.12 d	0 c	0 d	0.12 b	0.02 d	0 d	0 c	0.18 a	0.11 bc
玉米小班菌	0.04 de	0.05 d	0 c	0 d	0 b	0 d	0 d	0 c	0.01 c	0.16 abc
玉米大班菌	0 e	0 d	0 c	0 d	0 b	0.06 cd	0.04 cd	0.01 c	0.05 c	0.36 ab
谷子白发病菌	0.20 cde	0.73 bc	0.41 ab	1.32 ab	0 b	0 d	0 d	0 c	0.01 c	0 c
甜瓜蔓枯菌	0.06 de	0.06 d	0.21 bc	0.38 cd	0.08 b	0.05 cd	0.04 cd	0.03 bc	0 c	0.24 abc
黄瓜枯萎菌	0.01 e	0.23 d	0.16 bc	0.56 cd	0 b	0 d	0.08 bc	0.03 bc	0.01 c	0 c
黄瓜黑星菌	0.08 de	0.40 cd	0.19 bc	0.30 cd	0 b	0 d	0 d	0 c	0.02 c	0 c
稻瘟病菌	0.33 cd	0.12 d	0.34 ab	0.83 bc	0 b	0 d	0 d	0 c	0 c	0 c
对照	0.92 a	1.18 a	0.59 a	1.35 ab	0.30 ab	0.25 a	0.22 a	0.16 a	0.19 a	0.44 a

1) 同列中相同小写字母表示 5%水平差异不显著。

2.3 4 种病原菌培养滤液对草坪草种子萌发及生长的安全性试验

试验结果表明:玉米小班病菌和玉米大班病菌的培养滤液对黑麦草和早熟禾种子的萌发抑制较强;而烟草赤星病菌的培养滤液对两种草坪草种子的萌发、芽和根的生长都比较安全;黄瓜黑星病菌对黑麦草种子的萌发、芽和根的生长比较安全,而对早熟禾种子的萌发抑制较强。

表 3 4 种病原真菌滤液对草坪草种子的安全性

病原真菌	黑麦草			早熟禾		
	抑制率/%	芽/cm	根/cm	抑制率/%	芽/cm	根/cm
烟草赤星菌	0.7 c	2.06 a	1.67 a	+	1.79 a	1.06 a
玉米小班菌	99.6 a	0.10 c	0.09 b	98.9 a	0 b	0 c
玉米大班菌	96.4 a	0.41 b	0.12 b	99.5 a	0 b	0 c
黄瓜黑星菌	0.8 c	2.05 a	1.62 a	84.7 b	0.26 b	0.16 b
对照(清水) ²⁾	—	2.20 a	1.57 a	—	2.03 a	1.12 a

1) “+”为培养滤液对杂草种子有刺激萌发的作用; 2) 黑麦草和早熟禾在清水中的萌发率分别为 81.8%,87.5%。

3 结论与讨论

利用植物病原微生物防除草坪杂草是杂草生物防治的一个重要组成部分。真菌除草剂是一类防治杂草的真菌性植物病原生物制剂。其有效成分是活

的真菌繁殖体,对目标杂草专一性强、选择性高、对环境安全、无残留^[7]。本试验对 15 种植物病原真菌的培养滤液除草活性进行初步筛选,得出不同病原菌菌株对不同杂草萌发的抑制效果不同,有的还表现出刺激杂草种子生长作用。其中玉米小班病菌的培养滤液对稗草、反枝苋、蒲公英、车前表现出较显著的除草活性,黄瓜黑星病菌的培养滤液对稗草、蒲公英、车前也表现出较显著的除草活性。这 15 种病原菌在苘麻种子上表现除草活性与其他种子差异很大。表现较显著除草活性的有番茄早疫病菌、烟草赤星病菌、葡萄炭疽病菌、黄瓜枯萎病菌。小麦赤霉菌对反枝苋、稻瘟病菌和番茄灰霉病菌对车前、番茄早疫病菌对苘麻表现出专一性。安全试验表明,烟草赤星病菌的培养滤液对两种草坪草种子的萌发、芽和根的生长表现安全,黄瓜黑星病菌对黑麦草种子的萌发、芽和根的生长表现安全。因此可以考虑根据防除杂草的不同,利用不同的病原菌针对不同的草坪草开发生物除草剂。

除草剂对不同植物作用的靶标部位不同,通过本试验发现,不同菌株的培养滤液对杂草产生的抑制作用表现在不同方面,有的抑制根的生长,有的抑制芽的生长,还有的对根和芽的生长都有抑制作用,

这可能是由于菌株产生的次生代谢物质在杂草种子体内运输情况不同,因此可以根据此种情况来开发出不同使用时期的除草剂。

本试验只是对病原菌菌株产生的次生代谢物质的除草活性进行初步筛选,所选的条件不一定是每个菌株的最佳条件,对次生代谢物质的提取并不精细。这样,对杂草产生抑制作用的也可能是培养滤液中的其他成分。因此,还应该对培养滤液进一步提取以达到更精确的试验结果和更好的除草效果。

参考文献

[1] 李晶,沙长青.微生物除草剂研究进展与发展建议[J].现代化

农业,2003,12:10-12.

[2] 李扬汉,张宗俭,王建树,等.有关真菌除草剂研究的进展[J].生物防治通报,1994,10(1):35-39.

[3] TE BEEST D O, YANG X B, CISAR C R. The status of biological control of weeds with fungal pathogens [J]. Ann Rev Phytopathol, 1992, 30: 637-658.

[4] 向梅梅,李华平,姜子德.微生物除草剂研究现状与展望[J].仲恺农业技术学院学报,2005,18(4):64-69.

[5] 刘焕禄,刘亦学,刘晓琳,等.微生物除草剂研究概况与建议[J].天津农学院学报,2000,7(4):36-39.

[6] 黄春艳.利用植物病原真菌防除杂草研究进展[J].黑龙江农业科学,2000(3):43-44.

[7] 王朝华,张立新,董金皋.植物病原真菌毒素中除草活性物质的筛选[J].河北农业大学学报,2002,25(2):65-70.