

玉米弯孢叶斑病菌毒素除草活性的研究*

唐树戈¹, 郑其格¹, 牟林¹, 杨东伟¹, 陈捷^{2**}

1. 沈阳农业大学理学院, 沈阳 110161; 2. 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 201101

摘要: 以杂草种子萌发和幼苗生长受阻为指标, 测定了玉米弯孢叶斑病菌毒素的除草活性。结果表明: 毒素对马唐种子的萌发有明显的抑制作用, 抑制率可达100%, 但对稗草、狗尾草种子萌发的抑制作用较小。在供试植物出苗3 d后喷施毒素, 发现对马唐幼苗有致萎活性, 但对出苗7 d的幼苗没有作用; 对稗草、狗尾草幼苗无毒杀作用。安全性试验结果表明: 毒素对水稻、小麦、棉花、大豆种子的萌发抑制率< 10%。该毒素有潜力开发为生物除草剂。

关键词: 玉米弯孢叶斑病菌; 毒素; 除草活性

中图分类号: S435.131.49 文献标识码: A 文章编号: 1000-5684(2011)01-0023-03

Study of Herbicidal Activity of Toxin Produced by *Curvularia lunata*

TANG Shu-gē¹, ZHENG Qi-ge¹, MU Lin¹, YANG Dong-wei¹, CHEN Jie²

1. College of Sciences, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; 2. School of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101, China

Abstract: The herbicidal activity of *Curvularia lunata* toxin was assayed and indicated by inhibition to seed germination and seedling growth of weeds. The results show that seed germination of *Digitaria sanguinalis* weeds were restrained by the toxin to 100%. But seed germination of *Echinochloa crusgali* and *Setaria viridis* weeds were restrained lightly. When the toxin was sprayed on seedling after growing for 3 d, the *D. sanguinalis* seedling growth was inhibited, but the toxin had no effect on seedling for growing for 7 d. The toxin did not affect the growth of *E. crusgali* and *S. viridis* seedling. The inhibition rate of *Oryza sativa* and *Triticum aestivum* were very low and the toxin was safe.

Key words: *Curvularia lunata*; toxin; herbicidal activity

病原菌可产生具有天然活性的物质——毒素, 毒素又分为寄主专化性毒素和非寄主专化性毒素, 非寄主专化性毒素除了对寄主植物有毒害作用外, 对其他一些植物也有生物活性。农业生产中, 化学除草剂以它用量少、见效快的特点得到广泛应用, 但同时对环境造成较大危害, 而且残留较高、对人畜有害也是它的最大缺点, 因此可利用非寄主专化性毒素的特性制备生物农药。一种新型除草剂——生物除草剂正在兴起, 研究发现葱叶枯病菌毒素和紫茎泽兰链格孢毒素可抑制马唐幼苗的生长^[1], Kim等^[2]报道不等孢霉产生的棘壳孢素 Pyrenocine A 和 Pyrenocine B 均可引起百

慕大草坪的电解质渗漏和叶片尖端枯萎。目前有5种真菌除草剂登记注册用于防除杂草, 其中美国3种, 加拿大和荷兰各1种^[3]。据不完全统计, 被研究的生防真菌多达150余种^[4,5], 我国在这方面起步较早但发展较慢。本试验研究了玉米弯孢叶斑病菌毒素的除草活性, 旨在为将该毒素开发为生物除草剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

玉米弯孢叶斑病菌(*Curvularia lunata*)从辽宁省瓦房店地区寄主的典型病斑上分离纯化得到。

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2008 1066)

作者简介: 唐树戈, 女, 博士, 副教授, 从事植物病理学研究。

收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-07-06

** 通讯作者

28℃培养的马唐 (*Digitaria sanguinalis*)、稗草 (*Echinochloa crusgali*)、反枝苋 (*Amaranthus retriflerus*)、狗尾草 (*Setaria viridis*) 等杂草种子及幼苗,在营养钵中 28℃生长 3 d 和 7 d; 水稻 (*Oryza sativa*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、棉花 (*Gossypium spp.*)、大豆 (*Glycine max*) 种子,采用市售种子。

1.2 粗毒素的制备

将病原菌培养液 5 L 在 55℃减压浓缩后,分 2 次加入 5 L 甲醇(经无水硫酸钠干燥或蒸馏)于 40℃水浴振荡提取 6 h,冷却至室温,5 000 r/min 离心 20 min,除去不溶物,将上清液合并浓缩。再分 2 次加入 5 L 氯仿甲醇混合溶液 V(氯仿):V(甲醇)=3:2,滤去不溶物,蒸发至干,得到棕黄色的黏稠状物质,得到 10 g 粗毒素置于冰箱内 4℃保存^[5,6]。

1.3 毒素对种子萌发的抑制作用试验

将粗毒素稀释成 4 个不同的浓度:5, 10, 20, 50 倍。将马唐、稗草、反枝苋、狗尾草、水稻、小麦、棉花、大豆种子洗净,杂草种子用 7.92 mg/mL 的甲醛溶液处理 15 min,水稻、小麦等种子用 7.92 mg/mL 的甲醛溶液处理 30 min,在 2 张滤纸上滴加毒素的粗提液 10 mL,其中一张铺在培养皿中,另一张覆盖在种子表面,供试种子共 100 粒,3 次重复,以清水浸过的滤纸放在培养皿中为对照,将培养皿放入 27℃的恒温培养箱中,观察毒素对种子萌发的抑制作用。

1.4 毒素对杂草幼苗生长的抑制作用试验

将杂草种子催芽后,播种于小营养钵中,每盆播种 25 粒,待幼苗长出 3 d 和 7 d 后,在粗毒素

中加入 0.1% 的吐温 40,分别进行叶面喷雾处理,每个处理重复 3 次,以清水为对照,在室温条件下生长 3 d 后,观察其药害作用。测定地上部分鲜重,按以下公式^[7]计算防效:

$$\text{防效}(\%) = \frac{\text{对照组鲜重} - \text{处理组鲜重}}{\text{对照组鲜重}} \times 100$$

1.5 毒素对作物主要吸收部位的抑制作用试验

在塑料小杯中放入 90 g 风干砂土,分别播种刚萌发的作物种子,再覆盖 10 g 砂土,并在种子层的上下分别形成 2 个含毒素的土层,其中药剂浓度为 50 mg/kg。在种子层和含毒素土层之间是活性炭层(防止药剂上下移动),保持土壤的含水量为 20%,置于 28℃恒温光照的条件下培养 5 d 后,测量主根长、幼芽高,以清水为对照,每个处理重复 3 次,从而判断植物对毒素的主要吸收部位^[8,9]。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{对照组根长} - \text{处理组根长}}{\text{对照组根长}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 毒素对种子萌发的抑制作用

由试验结果(表 1)可知,在含有毒素成分的滤纸上,马唐的种子无一萌发,毒素对马唐种子抑制作用最明显,当稀释 50 倍时,抑制率为 76.9%;对稗草、狗尾草种子萌发虽影响较小,但萌发率也特别低,3 d 后未见生长,而此时对照种子萌发正常。由此可见,毒素对马唐的萌发敏感性高,对稗草、狗尾草敏感性较差,而对水稻、小麦、棉花、大豆是安全的,说明该毒素有可能成为这些作物田中的苗前除草剂。

表 1 毒素对植物种子萌发的抑制率

Table 1. The inhibitory rate of the toxin on the germination of plant seed

%

植物 Plant	毒素稀释倍数 Dilution multiple of toxin			
	5	10	20	50
水稻 <i>Oryza sativa</i>	18.2±2.8 ^a	18.0±1.9 ^a	13.3±1.1 ^a	0±1.0 ^a
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	20.7±2.6 ^a	17.9±1.4 ^a	9.8±1.4 ^a	0±1.0 ^a
棉花 <i>Gossypium spp.</i>	8.2±2.0 ^a	3.5±1.6 ^a	1.6±2.1 ^a	0±1.0 ^a
大豆 <i>Glycine max</i>	7.8±1.7 ^a	3.4±2.5 ^a	2.1±2.2 ^a	0±1.0 ^a
马唐 <i>Digitaria sanguinalis</i>	100.0±1.0 ^b	94.7±1.2 ^b	86.1±2.7 ^b	76.9±2.3 ^b
稗草 <i>Echinochloa crusgali</i>	76.0±2.2 ^b	54.0±2.1 ^b	30.0±1.4 ^b	16.0±1.4 ^b
狗尾草 <i>Setaria viridis</i>	67.0±1.7 ^b	52.0±1.7 ^b	29.0±2.5 ^a	16.5±2.2 ^b
反枝苋 <i>Amaranthus retriflerus</i>	11.0±1.8 ^a	7.8±1.6 ^a	0±1.0 ^a	0±1.0 ^a

2.2 毒素对杂草幼苗生长的抑制作用

粗毒素稀释 20 倍以上, 对各种杂草幼苗均无抑制作用, 浓度较大的粗毒素才有明显抑制作用。试验结果(表 2)表明, 毒素对出土 3 d 的马唐幼苗

有抑制作用, 而对其他杂草幼苗无明显抑制作用; 对出土 7 d 的杂草幼苗作用非常小, 3 d 的幼苗远比 7 d 的幼苗对毒素敏感。这说明利用毒素作为除草剂时, 在幼苗早期使用效果更佳。

表 2 毒素对杂草幼苗的抑制率

Table 2. The inhibitory rate of the toxin on the seedling of weeds

毒素稀释倍数 Dilution multiple of toxin	马唐 <i>Digitaria sanguinalis</i>		稗草 <i>Echinochloa crusgali</i>		狗尾草 <i>Setaria viridis</i>		反枝苋 <i>Amaranthus retroflerus</i>	
	3 d	7 d	3 d	7 d	3 d	7 d	3 d	7 d
	5	40±1.3 ^b	10±1.3 ^a	12±2.3 ^a	0 ^a	10±1.6 ^a	5±1.6 ^a	0 ^a
10	20±2.1 ^a	4±2.3 ^a	7±1.7 ^a	0 ^a	7±2.1 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
20	5±2.2 ^a	0 ^a	10±1.8 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
50	7±2.6 ^a	0 ^a	5±2.4 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

2.3 毒素对作物主要吸收部位的抑制作用

由测定结果(表 3)可以看到, 毒素对水稻、小麦的抑制率 < 10%。从对毒素的吸收部位来看, 对芽的抑制作用略高于对根的作用, 可以推断对毒素的吸收部位可能是胚芽。毒素对马唐种子

芽、根的抑制效果明显, 抑制率达到 93.8% 和 83.3%。由试验数据可知, 毒素对杂草的抑制效果主要通过胚芽对毒素的吸收表现出来, 对各种杂草胚根的抑制率普遍低于对胚芽的抑制率, 可以推断芽是杂草吸收毒素的主要部位。

表 3 毒素对作物主要吸收部位的抑制率

Table 3. The inhibitory rate of toxin on the absorption site of plant

植物 Plant	芽 Bud	根 Root	植物 Plant	芽 Bud	根 Root
水稻 <i>Oryza sativa</i>	8.3±2.1 ^a	5.6±2.2 ^a	稗草 <i>Echinochloa crusgali</i>	85.7±2.6 ^b	80.7±1.8 ^b
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	7.6±2.2 ^a	5.2±1.7 ^a	狗尾草 <i>Setaria viridis</i>	82.0±1.8 ^b	81.0±1.6 ^b
马唐 <i>Digitaria sanguinalis</i>	93.8±1.4 ^b	83.3±2.5 ^b	反枝苋 <i>Amaranthus retroflerus</i>	12.1±1.4 ^a	11.3±1.4 ^a

3 结论

本研究结果表明, 玉米弯孢叶斑病菌毒素对水稻、大豆、小麦、棉花等农作物是安全的; 对马唐种子的萌发表现出非常明显的抑制作用, 对其幼苗也有毒杀活性, 但对反枝苋的敏感性较弱, 该毒素可以开发为上述农作物的田间除草剂。

在筛选除草剂时, 安全性和有效性是人们最关心的两个问题, 也是选择生物除草剂的两个重要标准, 作为微生物除草剂的真菌首先应不危害农作物, 若只引起个别作物轻微病害也是可以使用的。

参考文献:

[1] 张金林, 董金皋, 樊慕贞, 等. 葱叶枯病菌 *Stenphylium botryosum* 毒素的分离与除草活性研究[J]. 农药学报, 2001, 3(2): 60-66.

[2] Kim J C, Choi G, Heung T, et al. Pathogenicity and pyrenocine production of *Curvularia inaequalis* strain from zoysia grass[J]. Plant Disease, 2000, 84: 684-688.

[3] 朱秦, 强胜. 真菌除草剂的剂型及应用研究现状[J]. 农药, 2004, 43(8): 337-341.

[4] 吴保峰, 刁治民, 熊亚. 微生物除草剂的研究现状及应用前景[J]. 青海草业, 2004, 13(2): 34-39.

[5] 唐树戈, 牟林, 郑其格, 等. 玉米弯孢叶斑病菌毒素稳定性的研究[J]. 植物保护, 2009, 35(1): 111-113.

[6] 王惠, 董金皋, 商鸿生, 等. 灰葡萄孢毒素的生物活性测定和除草活性成分分离研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(2): 233-237.

[7] 祁高富, 杨斌, 叶建仁. 植物病原菌毒素研究进展[J]. 南京林业大学学报, 2003, 24(2): 67-70.

[8] 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.

[9] 向梅梅, 黄品淦, 江志梅, 等. 莲子草假隔链格孢菌除草活性产物研究初报[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(4): 352-355.