

王 静, 罗国玖, 蒙远涛, 等. 紫茎泽兰内生菌的分离及其代谢物的除草活性[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 99–101.

紫茎泽兰内生菌的分离及其代谢物的除草活性

王 静, 罗国玖, 蒙远涛, 刘 林, 叶 敏, 范黎明, 查友贵

(农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室/农业生物多样性应用技术国家工程研究中心/云南农业大学植物保护学院, 云南昆明 650201)

摘要: 为了从紫茎泽兰中分离内生菌并研究内生菌代谢物的除草活性, 为开发高效、安全、与环境友好的新型农药奠定基础, 用紫茎泽兰茎叶汁液固体培养基从紫茎泽兰茎中分离内生菌, 并制备内生菌代谢物, 以高粱、小麦、黄瓜、油菜 4 种供试植物为测试对象, 以种子萌发法测定紫茎泽兰内生菌代谢物的除草活性。结果显示, 从紫茎泽兰茎中分离得到 9 种内生真菌, 且均能在马铃薯蔗糖琼脂培养基中正常生长; 在 1 mg/mL 浓度下, 9 种内生菌代谢物至少对 1 种供试植物根长(或茎长)抑制率达 80% 以上, F1、F2、F5、F6、F7、F8、F9 等 7 种内生菌代谢物至少对 2 种供试植物根长(或茎长)抑制率达 80% 以上, F1、F2、F8 等 3 种内生菌代谢物至少对 3 种供试植物根长(或茎长)抑制率达 80% 以上。说明紫茎泽兰内生菌具有较强的除草活性。

关键词: 紫茎泽兰; 内生菌; 分离; 代谢物; 除草活性

中图分类号: S451.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)05–0099–02

紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum* Spreng) 属菊科泽兰属多年生植物, 是我国目前最具入侵性的外来恶性杂草, 现已在世界 30 多个国家发生并产生危害。由于紫茎泽兰适应的生境广泛, 传播扩散速度快, 侵染能力强, 因而对紫茎泽兰的研究始终受到世界范围内专家和学者们的广泛关注^[1–2]。研究表明, 紫茎泽兰对农业有害生物具有较强的生物活性。紫茎泽兰对昆虫具有毒杀作用^[3–7], 对植物病原菌具有抑制作用^[8–12], 具有很强的除草活性^[13], 对鼠类也有毒杀作用^[14–15], 进一步的深入研究正在进行中。植物内生菌是指那些在其生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物的各种组织和器官内部的真菌或细菌, 其种类丰富, 生物学功能各异, 具有非常大的应用潜力^[16]。利用植物内生菌资源筛选抗菌、杀虫和除草活性物质, 对促进新型生物农药的开发和研制具有十分重要的意义^[17]。紫茎泽兰对多种农业有害生物均表现出较强的生物活性, 其内生菌也可能对多种农业有害生物具有较强的生物活性。但关于紫茎泽兰内生菌的研究尚未见报道, 对农业有害生物活性研究更未见报道。本研究拟分离紫茎泽兰内生菌, 并对其代谢物的除草活性进行研究, 为开发高效、低毒、低残留、与环境友好的新型农药奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试植物 紫茎泽兰采集于云南农业大学校园附近; 高粱、小麦、黄瓜、油菜种子均购自当地的种子市场。

1.1.2 主要仪器 旋转蒸发仪 RE–52AA, 上海亚荣生化仪器厂生产; 振荡器 ZP–200, 江苏省太仓市实验设备厂生产;

智能光照培养箱 GXZ, 浙江省宁波江南仪器厂生产; 精密电子天平 FA2004, 上海精科天平生产; 超净工作台 SY–CJ–LBU, 苏净集团安泰公司生产; 超声波发生器 SY6200–D, 上海声源超声波仪器设备有限公司生产; 灭菌锅 GBSD208, 上海核子仪器厂生产; 水浴锅 HHS(0–100), 河南省郑州长城科工贸有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 紫茎泽兰内生菌的分离 采集新鲜的紫茎泽兰茎叶 200 g, 剪碎, 加入 1 000 mL 水煮 30 min, 然后进行过滤, 加水补足至 1 000 mL。滤液中加入蔗糖 15 g 和琼脂 17 g, 加热使琼脂完全熔化后, 过滤, 分装, 高压灭菌, 待用。

将采集的新鲜紫茎泽兰茎用清水洗净表面, 再用无菌水冲洗; 然后在常规无菌操作条件下, 用 75% 乙醇浸泡 1 min, 用无菌水冲洗 3 次; 2% 次氯酸钠溶液中浸泡 2 min, 无菌水冲洗 3 次; 用无菌解剖刀将已表面消毒的紫茎泽兰茎切成 0.5 cm 长的小段, 置于紫茎泽兰茎叶汁液固体培养基中, 于 (25 ± 1) °C 黑暗条件下培养; 待培养基上有菌长出后, 进行分离纯化, 直到得到单一菌落, 斜面保存备用。

将分离得到的紫茎泽兰内生菌转接到马铃薯蔗糖琼脂固体培养基中, 观察其能否正常生长。

1.2.2 紫茎泽兰内生菌代谢物的制备 将紫茎泽兰内生菌接种到马铃薯蔗糖液体培养基中, 于 (25 ± 1) °C 下振荡培养, 转速为 100 r/min。培养至培养液中充满菌丝(约 5 d)后, 把培养液进行过滤, 滤液用旋转蒸发仪在 60 °C 条件下浓缩至膏状, 即得紫茎泽兰内生菌代谢物。转入棕色广口瓶中, 4 °C 冰箱中保存备用。

1.2.3 紫茎泽兰内生菌代谢物的除草活性测定 分别称取 0.05 g 紫茎泽兰内生菌代谢物, 加入 50 mL 蒸馏水中, 使其充分溶解, 得 1 mg/mL 的药液。采用种子萌发法进行除草活性测定。在培养皿(直径 9 cm)底部铺上 1 层滤纸, 加入 10 mL 药液。用蒸馏水代替药液作对照。在每个培养皿中分别均匀播种高粱、小麦、油菜、黄瓜种子(高粱、油菜种子使用前催芽 24 h)10 粒, 每个处理重复 3 次。(25 ± 1) °C 黑暗条件下培养

收稿日期: 2012–11–02

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30960226); 云南省自然科学基金(编号: 2010CD056)。

作者简介: 王 静(1978–), 女, 河南安阳人, 硕士, 讲师, 主要从事生物多样性与农药安全研究工作。E–mail: xiaojingxwj@163.com。

通信作者: 查友贵。E–mail: zhayg@163.com。

72 h 后,分别测量高粱和油菜幼苗的根长和茎长,96 h 后分别测量小麦和黄瓜的根长(小麦测量最长根)和茎长,按下式计算根长(或茎长)抑制率:

根长(或茎长)抑制率 = $\frac{\text{对照根长(或茎长)} - \text{处理根长(或茎长)}}{\text{对照根长(或茎长)}} \times 100\%$

1.2.4 数据分析 应用 Microsoft Office Excel 2003 和 The SAS System for Windows V8 进行数据分析和统计。

2 结果与分析

2.1 紫茎泽兰内生菌的分离

用紫茎泽兰茎叶汁液固体培养基从紫茎泽兰茎中分离得到 9 种真菌(F1、F2、F3、F4、F5、F6、F7、F8、F9)。把这些菌株接种到马铃薯蔗糖琼脂固体培养基中,均能正常生长。

2.2 紫茎泽兰内生菌代谢物的除草活性

以种子萌发法测定紫茎泽兰内生菌代谢物对小麦、黄瓜、高粱、油菜幼苗根长和茎长的影响,结果见表 1 至表 4。

表 1 紫茎泽兰内生菌代谢物对小麦幼苗生长的抑制作用		
菌株	根长抑制率 (%)	茎长抑制率 (%)
F9	90.09 ± 1.29aA	81.77 ± 0.56aA
F2	84.43 ± 1.84bAB	66.26 ± 0.99bB
F8	82.83 ± 1.67cABCb	78.52 ± 1.43aA
F1	81.40 ± 1.59bcBC	69.00 ± 1.42bB
F5	78.57 ± 1.78cdBC	57.96 ± 2.13cC
F7	78.56 ± 1.29cdBC	66.98 ± 0.84bB
F6	75.01 ± 2.14dC	65.35 ± 1.87bB
F3	30.12 ± 1.22eD	10.36 ± 1.60eE
F4	29.27 ± 2.11eD	20.77 ± 1.31dD

注:同列数据后不同小写、大写字母者表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。表 2 至表 4 同。

表 2 紫茎泽兰内生菌代谢物对黄瓜幼苗生长的抑制作用		
菌株	根长抑制率 (%)	茎长抑制率 (%)
F4	44.14 ± 2.22aA	44.50 ± 2.57fE
F1	41.01 ± 1.60bAB	68.74 ± 1.78dC
F8	38.72 ± 1.61bB	91.12 ± 1.27aA
F2	25.57 ± 1.42cC	76.24 ± 1.15bcB
F5	20.56 ± 2.51cdCD	76.90 ± 2.10bB
F6	19.51 ± 2.69dCD	68.71 ± 1.39dC
F7	19.19 ± 0.67dD	68.50 ± 0.42dC
F9	-3.54 ± 1.65eE	72.13 ± 1.77cdBC
F3	-14.95 ± 1.55fF	50.28 ± 2.34eD

由表 1 可知,在 1 mg/mL 浓度下,F1、F2、F8、F9 等 4 种内生菌代谢物对小麦根长抑制率达 80% 以上,其中 F9 代谢物对小麦茎长抑制率达 90% 以上。

由表 2 可知,在 1 mg/mL 浓度下,9 种紫茎泽兰内生菌代谢物中只有 F8 代谢物对黄瓜茎长抑制率达 80% 以上;而 9 种内生菌代谢物对黄瓜根长抑制作用均较弱,抑制率均低于 50%。

由表 3 可知,在 1 mg/mL 浓度下,F2、F5、F6、F7 等 4 种内生菌代谢物对高粱根长和茎长抑制率均达 80% 以上,其中 F5

表 3 紫茎泽兰内生菌代谢物对高粱幼苗生长的抑制作用		
菌株	根长抑制率 (%)	茎长抑制率 (%)
F5	98.99 ± 1.01aA	99.57 ± 0.43aA
F7	86.44 ± 0.78bB	92.32 ± 0.70bB
F2	85.41 ± 0.49bB	90.98 ± 0.58bcB
F6	83.60 ± 0.36bBC	89.42 ± 0.46cB
F1	79.11 ± 1.03cC	81.94 ± 0.74dC
F8	73.12 ± 0.97dD	74.11 ± 0.53fE
F9	61.62 ± 1.68eE	77.52 ± 1.11eD
F4	52.49 ± 1.17fF	71.90 ± 1.72fE
F3	36.59 ± 2.13gG	57.71 ± 1.18gF

对高粱根长和茎长抑制率极显著高于其他 8 种内生菌代谢物;F1 代谢物对高粱根长和茎长也有较好的抑制作用。

由表 4 可知,在 1 mg/mL 浓度下,9 种内生菌代谢物对油菜根长抑制率均达 80% 以上,而 F1、F2、F5、F6、F7、F8、F9 等 7 种内生菌代谢物对油菜茎长抑制率均达 80% 以上。

表 4 紫茎泽兰内生菌代谢物对油菜幼苗生长的抑制作用		
菌株	根长抑制率 (%)	茎长抑制率 (%)
F6	99.78 ± 0.22aA	98.56 ± 1.44aA
F8	99.64 ± 0.19aA	95.67 ± 0.75abAB
F7	98.69 ± 1.31aA	99.55 ± 0.45aA
F1	97.80 ± 1.30abA	89.30 ± 1.51cB
F5	97.30 ± 1.38abA	95.14 ± 1.65abAB
F9	97.24 ± 2.76abA	96.26 ± 2.21aAB
F2	93.69 ± 0.58bcAB	91.09 ± 1.69bcB
F4	90.21 ± 1.64cdBC	19.58 ± 2.01eD
F3	86.25 ± 1.40dC	59.46 ± 1.63dC

综合分析可知,在 1 mg/mL 浓度下,9 种内生菌代谢物至少对 1 种供试植物根长(或茎长)抑制率达 80% 以上,F1、F2、F5、F6、F7、F8、F9 7 种内生菌代谢物至少对 2 种供试植物根长(或茎长)抑制率达 80% 以上,F1、F2、F8 等 3 种内生菌代谢物至少对 3 种供试植物根长(或茎长)抑制率达 80% 以上。

3 结论与讨论

紫茎泽兰对多种农业有害生物具有较强的生物活性,其内生菌也可能具有较强的活性。本研究从紫茎泽兰茎中分离得到了 9 种内生菌,结果表明其代谢物具有较强的除草活性,为研究开发高效、低毒、低残留、与环境友好的新型农药奠定了基础。

本研究从紫茎泽兰茎中分离得到 9 种内生菌,但对其根、叶等部位的内生菌没有进行分离;同时,本研究采集的紫茎泽兰仅限于云南农业大学校园附近,对其他生境的紫茎泽兰没有进行内生菌的分离。因此,本研究分离得到的紫茎泽兰内生菌可能只是很有限的几种,尚有很多种类没有分离出来。紫茎泽兰内生菌有待进一步分离。

本研究从紫茎泽兰茎中分离得到 9 种内生菌,生物测定结果表明,紫茎泽兰内生菌代谢物具有较强的除草活性。但这些菌的种类有待进一步鉴定,除草活性成分及作用机理有待深入研究。

本研究仅对紫茎泽兰内生菌的除草活性进行了初步研

邓志勇. 木荷树皮提取物防治小菜蛾的盆栽药效试验[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 101–102.

木荷树皮提取物防治小菜蛾的盆栽药效试验

邓志勇

(贺州学院化学与生物工程学院, 广西贺州 542800)

摘要: 通过盆栽药效试验, 测定了 20% 木荷树皮甲醇提取物水剂对小菜蛾的防治效果。结果表明, 20% 木荷树皮甲醇提取物水剂对小菜蛾具有较好的防治效果, 对小白菜有较高的保叶作用。20% 木荷树皮甲醇提取物水剂 5、10、20 倍稀释液施药后 3 d, 对小菜蛾幼虫的防治效果分别为 100%、92.67% 和 86.67%, 保叶率分别为 96.97%、73.81% 和 42.94%。

关键词: 木荷树皮提取物; 小菜蛾; 药效试验

中图分类号: S436.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)05–0101–02

植物源农药通常对昆虫表现为毒杀、行为干扰和生长调节作用。一般而言, 这类物质不会污染环境, 对人、畜、农作物、生态环境相对安全, 昆虫对其不易产生抗性^[1]。木荷 (*Schima superba* Gardn. et Champ.) 别称荷木、荷树、木艾树, 为山茶科木荷属的常绿乔木, 生长于长江流域以南, 广东、广西、福建、台湾、云南、四川、贵州、浙江、安徽等均有分布。其功能主治外敷疗疮、无名肿毒, 同时, 木荷还具有较高的抑菌活性^[2]和杀虫^[3–4]活性。前期研究^[5–7]明确了木荷树皮甲醇提取物对小菜蛾、菜青虫具有较高的拒食活性, 本试验为了使木荷能够开发成一种无公害的植物源农药, 以木荷树皮甲醇提取物为原料, 研制出 20% 木荷树皮甲醇提取物水剂, 对小

菜蛾进行了盆栽药效试验, 现将初步试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试试虫 小菜蛾 (*Plutella xylostella* L.)。成虫样品从桂林市高新区郊区菜地采集, 放入自制的养虫笼中使其产卵, 定期供以 10% 的蜂蜜水作为补充营养。虫卵置于温度为 (26 ± 1) °C、光–暗周期为 12 h–12 h 的光照培养箱中孵化, 孵化后的幼虫作为供试试虫。

1.1.2 供试药剂 木荷树皮, 采自广西桂林市临桂县宛田乡; 20% 木荷树皮甲醇提取物水剂 (AS); 1.8% 的阿维菌素乳油 (山东利邦农化有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 植物有效成分提取 植物成分的提取采用溶剂冷浸提取法。将采集的木荷树皮, 洗净风干, 放入 60 °C 的恒温鼓风干燥箱内烘干至发脆, 用植物粉碎机将其粉碎, 过 425 μm

收稿日期: 2013–01–22

基金项目: 广西自然科学基金青年项目 (编号: 2011GXNSFB018055)。

作者简介: 邓志勇 (1978—), 男, 广西临桂人, 硕士研究生, 讲师, 主要从事植物源农药研究及天然药物的开发与利用。E-mail: dengzhiyong05@163.com。

究, 关于其内生菌的杀虫活性、抑菌活性等尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 强 胜. 世界性恶性杂草——紫茎泽兰研究的历史及现状[J]. 武汉植物学研究, 1998, 16(4): 366–372.
- [2] 万方浩, 刘万学, 郭建英, 等. 外来植物紫茎泽兰的入侵机理与控制策略研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2011(1): 13–21.
- [3] 李小平, 胡学难, 罗兴毅. 紫茎泽兰提取液防治柑桔全爪螨田间药效试验[J]. 贵州农业科学, 1995(1): 49–50.
- [4] 李云寿, 邹华英, 汪禄祥, 等. 紫茎泽兰提取物对四种储粮害虫的杀虫活性[J]. 昆虫知识, 2001(3): 214–216.
- [5] 王一丁, 高 平, 张其红, 等. 紫茎泽兰灭蚜活性物质的分离、纯化及其对棉蚜乙酰胆碱酯酶的影响[J]. 高技术通讯, 2002(9): 21–23.
- [6] 王一丁, 高 平, 郑 勇, 等. 紫茎泽兰提取物对棉蚜的毒力及其灭蚜机理研究[J]. 植物保护学报, 2002, 29(4): 337–340.
- [7] 吴 迪, 赵丽荣, 张有为. 紫茎泽兰等 4 种植物粗提物对桃蚜的毒杀效果[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(10): 5931, 6000.
- [8] 李丽萍, 谢响明, 宋洪英, 等. 紫茎泽兰提取物对番茄青枯菌的抑菌作用及其机理[J]. 生物技术通报, 2010(7): 146–152.

- [9] 梁晓华, 梁晓东, 徐成东, 等. 紫茎泽兰提取液的抑菌活性研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2010, 45(4): 116–118.
- [10] 田 宇, 侯 婧, 吴建平, 等. 紫茎泽兰挥发性成分及抑菌活性研究[J]. 农药学报, 2007, 9(2): 137–142.
- [11] 张妙直, 田兆丰, 刘佳磊, 等. 紫茎泽兰提取物对几种植物病原真菌的抑制作用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(12): 6090–6091, 6105.
- [12] 汤东生, 王 斌, 李成云. 紫茎泽兰对石榴枯萎病菌和枯草芽孢杆菌生长的影响[J]. 杂草科学, 2011, 29(4): 24–27.
- [13] 查友贵, 杨娟娟, 王 斌, 等. 紫茎泽兰提取物的除草活性研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(7): 3528–3530.
- [14] 董 强, 赵宝玉, 顾 强, 等. 紫茎泽兰全草对小鼠毒性试验[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2011, 41(3): 469–472.
- [15] 李厚勇, 王 蕊, 张振铃, 等. 紫茎泽兰醇提取物对大鼠致畸作用[J]. 中国公共卫生, 2011(12): 1593–1594.
- [16] 张琪玲, 杨宇红, 谭周进, 等. 植物内生菌的功能研究进展[J]. 生物技术通报, 2010(7): 28–34.
- [17] 俞晓平, 陈列忠, 申屠旭萍. 植物内生菌及其代谢物在生物农药创制中的应用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(5): 289–293.