

郭文磊,张 纯,张泰劼,等. 基于 *EPSPS* 基因拷贝数差异的草甘膦抗性与敏感牛筋草萌发和出苗特性[J]. 江苏农业科学,2023,51(21):119-125.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.21.019

基于 *EPSPS* 基因拷贝数差异的草甘膦抗性与敏感牛筋草萌发和出苗特性

郭文磊,张 纯,张泰劼,田兴山

(广东省农业科学院植物保护研究所/农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室/广东省植物保护新技术重点实验室,广东广州 510640)

摘要:为了明确基于 *EPSPS* 基因拷贝数差异的草甘膦抗性与敏感牛筋草在不同环境因子下的萌发和出苗特性,采用培养皿法测定抗性(R)和敏感(S)生物型在不同温度、光周期、pH 值、盐浓度、渗透势和埋藏深度下的萌发和出苗情况。结果表明,牛筋草在 20~35℃范围内的最终萌发率均在 90%以上;在 18℃/12℃变温和 15℃恒温处理下,R 生物型的萌发率显著高于 S 生物型;在 40℃恒温和 43℃/37℃变温处理下,R、S 生物型的萌发率均在 83%以上,但幼苗无法正常生长。2 种生物型在不同光周期处理下的萌发率在 93%以上,在 pH 值为 4.0~10.0 范围内的萌发率均在 80%以上,在 NaCl 浓度为 200 mmol/L 时的萌发率均低于 10%。当渗透势为 -0.6~-0.4 MPa 时,R 生物型的萌发率显著高于 S 生物型,当渗透势为 -0.8 MPa 时均无法萌发,但未萌发的种子仍保持活性。R、S 生物型的出苗率均随埋藏深度增加,其出苗率显著下降。由研究结果可知,牛筋草 R、S 生物型在部分温度和渗透势处理下的萌发特性存在显著差异,研究结果可为制定抗性杂草绿色治理策略提供依据。

关键词:牛筋草;草甘膦;抗性生物型;种子萌发;抗性治理

中图分类号:S451.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)21-0119-07

牛筋草 [*Eleusine indica* (L.) Gaertn.] 是一种在我国危害严重的旱田禾本科杂草,适应性强,在中国华南地区广泛发生在各种旱作物田、菜田、果园等生境^[1]。长期以来,在果园、非耕地或菜田(一般作清园用)防除牛筋草等杂草时,草甘膦是最广泛使用的除草剂之一。草甘膦是一种广谱灭生性除草剂,其杀草谱广,对 100 余种常见农田杂草均具有较好的效果,自 1978 年商品化以来,草甘膦逐渐成为全球使用量最大的除草剂^[2]。目前,我国含草甘膦成分的各种除草剂登记产品达 1 500 个以上^[3],预计未来一定时期内草甘膦在我国除草剂市场仍将占有重要地位。在华南地区,由于气候温和湿润,牛筋草等杂草在不同季度均可出苗,一年内

可完成多代生活史,因此本地区草甘膦使用频次高、用量大,给杂草带来极大选择压力^[4]。

1997 年,澳大利亚的瑞士黑麦草 (*Lolium rigidum* Gaud.) 种群首先被发现对草甘膦产生抗性^[5]。2000 年,在马来西亚首次报道了抗草甘膦的牛筋草种群^[6]。在中国,广州、惠州等地的牛筋草种群首先被发现对草甘膦产生了抗药性^[7]。近些年来,国内外有关牛筋草对草甘膦抗性的研究主要集中在抗性机制方面,如发现草甘膦靶标酶(5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶,EPSPS)基因突变、基因拷贝数增加、基因过表达均可导致牛筋草对其产生抗药性^[8-9],近期的研究发现这 2 种抗性机制可在杂草植株中同时存在^[10],在其他草甘膦抗性杂草中还报道有吸收、转运、解毒、液泡隔离等非靶标抗性机制^[11]。与抗性机制研究相比,目前针对草甘膦抗性牛筋草与敏感生物型对非草甘膦处理条件的适应性研究较少,Vila-Aiub 等曾报道,EPSPS 基因 106 位点单突变型牛筋草与敏感生物型在非草甘膦处理条件下的生长、竞争能力等方面无明显差异^[12];Han 等报道,EPSPS 基因 102+106 位双突变型牛筋草则在生物量、种子量、竞争能力等方面较敏感生物型显著下降^[13];Li 等研究发现,EPSPS 基因拷贝数增加的抗性牛筋草的生物量、叶面积和种

收稿日期:2022-12-21

基金项目:广州市基础与应用基础研究项目(编号:202201010517);国家自然科学基金(编号:31901900);广东省科技计划(编号:2019B121201003);广东省现代农业产业技术体系共性关键技术研发创新团队项目(编号:2022KJ113)。

作者简介:郭文磊(1989—),男,山东菏泽人,博士,副研究员,主要从事农田杂草抗药性及防控技术研究。E-mail: nongzhida@126.com。

通信作者:田兴山,博士,研究员,主要从事农田杂草抗药性及防控技术研究。E-mail: xstian@tom.com。

子量均显著高于敏感生物型^[14]。但是,作为最常见的牛筋草对草甘膦的抗性机制,有关 *EPSPS* 基因拷贝数差异导致的抗性与敏感牛筋草生物型种子萌发、出苗等生物学特性的研究尚未见报道。

种子萌发出苗过程受到种子内源因素及温度、光照、pH 值、盐浓度、渗透势、埋藏深度等多种外界环境因素的共同影响,杂草种子顺利萌发出苗是其在田间形成种群优势并造成危害的前提,而利用其萌发出苗特性也有助于制定针对性的杂草防除策略。目前,基于 *EPSPS* 基因拷贝数差异的草甘膦抗性与敏感牛筋草在种子萌发、出苗方面是否存在差异尚未可知,因此,本研究主要目的在于明确不同环境因子下,基于 *EPSPS* 基因拷贝数差异的抗性与敏感牛筋草生物型的种子萌发、出苗特性,以期制定草甘膦抗性牛筋草的绿色治理策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所使用的牛筋草抗性和敏感生物型初始种群混采自同一块玉米田,此前已证实该种群对草甘膦产生了抗性^[10]。为了减少基因背景差异的影响,从混采种群中随机选择 50 粒种子(F₀)进行单株播种,然后在光照培养箱(光照时长 12 h/d,昼/夜温度为 25 ℃/18 ℃)中培养,待长出 3 个分蘖时将不同分蘖用刀片分割开,分至不同花盆中单独培养,缓苗 3 d 后选择其中 2 株分蘖,按照有效成分剂量 800 g/hm² 喷施草甘膦,另一株分蘖时喷施清水作为对照。

喷药 14 d 后,根据施药分蘖的死亡情况进行分类:若施药的 2 株分蘖均死亡,则培养其喷施清水的分蘖至种子成熟,并标记为敏感;若施药的 2 株分蘖均存活,则将存活的分蘖和对照分蘖均培养至种子成熟,并标记为抗性。至种子开花结果期,用 100 目筛网将不同株的分蘖隔离培养,收集种子(F₁ 代材料),每个类别至少收集 15 株。对收集的 F₁ 代材料进行以下内容的鉴定:对于抗性植株 F₁ 代材料,于 3~4 叶期进行 DNA 提取,然后用引物分别对 *EPSPS* 基因进行扩增测序和相对拷贝数的检测^[10],选择 *EPSPS* 基因未发生突变且相对拷贝数在 20 以上的植株进行隔离培养,收集种子(F₂ 代);对于敏感植株 F₁ 代材料,进一步确认其 *EPSPS* 基因未发生突变且拷贝数未发生变化,收集种子(F₂ 代)。分别取不同 4 株植株的抗性、敏感 F₂ 代种子进行混

匀,作为本研究的抗性(R)生物型和敏感(S)生物型材料。为了避免种子休眠可能带来的影响,本研究中的所有试验均使用收获后至少 6 个月的种子。

1.2 不同环境因子对 R、S 生物型种子萌发的影响

本研究拟测定不同温度、光周期、pH 值、盐浓度、渗透势等环境因子对牛筋草 R、S 生物型种子萌发的影响,为了探讨可能的治理策略,本研究所设计的相关环境因子的参数范围除包含常规环境条件外,还包含个别较极端的条件。本研究均采用培养皿法,除特殊说明外,标准方法为:在直径为 9 cm 的培养皿中放入 2 层滤纸,加入去离子水或相应处理的溶液 7 mL,然后将 30 粒大小一致、籽粒饱满的牛筋草种子均匀摆放在滤纸上,每个处理设 3 次重复^[15],光照时长为 12 h/d,昼/夜温度为 30 ℃/24 ℃,培根长度 1 mm 视为萌发。

1.2.1 温度对 R、S 生物型种子萌发的影响 设置 15、20、25、30、35、40 ℃ 共 6 个恒温处理,以及 18 ℃/12 ℃、30 ℃/24 ℃、43 ℃/37 ℃ 共 3 个昼夜变温处理,除温度条件外,其他条件同上述标准方法。处理后每天记录种子萌发数,连续记录 14 d。

1.2.2 光周期对 R、S 生物型种子萌发的影响 设置 3 组光周期处理,光照时长分别为 24、12、0 h/d。为了保证非光照时的黑暗环境,将光照 0 h/d 处理组的培养皿用 3 层铝箔纸包裹并盖黑膜,除光照条件外的其他条件同上述标准方法,处理后 14 d 记录种子萌发数。

1.2.3 pH 值对 R、S 生物型种子萌发的影响 用不同 pH 值的缓冲液代替去离子水进行萌发试验,溶液的配制参考 Chachalis 等的方法^[16],即使用 1 mol/L HCl 溶液将 2 mmol/L 邻苯二甲酸氢钾溶液的 pH 值调至 4.0;用 1 mol/L NaOH 溶液将 2 mmol/L 2-(N-吗啉)乙磺酸(MES)溶液的 pH 值调至 5.0、6.0;用 1 mol/L NaOH 溶液将 2 mmol/L 的 HEPES[N-(2-羟甲基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)]溶液的 pH 值调至 7.0、8.0;用 1 mol/L NaOH 溶液将 2 mmol/L 三甲基甘氨酸溶液的 pH 值调至 9.0、10.0,其他条件同上述标准方法,处理后 14 d 记录种子萌发数。

1.2.4 盐浓度对 R、S 生物型种子萌发的影响 用浓度为 0、20、40、80、120、160、200、240、280 mmol/L NaCl 的溶液代替去离子水进行萌发试验,其他条件同上述标准方法,处理后 14 d 记录种子萌发数。

1.2.5 渗透势对 R、S 生物型种子萌发的影响 参

考 Michel 的方法^[17], 分别称取 0、80.5、120.5、151.4、177.4、200.4、221.2、240.4、258.2 g 聚乙二醇 (PEG) 8000 溶于 1 L 去离子水中, 配制渗透势分别为 0、-0.1、-0.2、-0.3、-0.4、-0.5、-0.6、-0.7、-0.8 MPa 的水溶液。用不同渗透势的水溶液代替去离子水进行萌发试验, 其他条件同上述标准方法, 处理后 14 d 记录种子萌发数。对于 -0.8 MPa 下处理 14 d 后未能萌发的 R、S 生物型种子, 将其清洗干净后移入含有去离子水的培养皿中继续观察 14 d, 温度、光照条件不变, 统计最终萌发率。

1.3 埋藏深度对 R 和 S 生物型出苗的影响

设置 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 cm 共 7 个埋藏深度处理, 采用底部具孔直径为 12 cm 的花盆进行试验, 花盆中填有田间表土层壤土 (经 120 °C 高温处理 4 h 杀灭土壤中可能含有的其他杂草种子), 光照和温度条件同“1.2”节中所述标准方法, 采用底部渗透的方式保证土壤湿度。每个处理设 3 次重复, 每盆播种牛筋草种子 20 粒, 处理后 21 d 统计出苗率。

1.4 数据统计

在温度试验中, 某温度下达到 90% 萌发率所需时间 (t_{90}) 和萌发速率 (v) 分别用以下公式^[18]进行统计:

$$t_{90} = (H_p - L_p)^{-1} + L;$$

$$v = 1/t_{90}。$$

式中: L 表示达到 90% 萌发率的天数; L_p 表示在 L 天的种子萌发率; H_p 表示萌发率达到 (或超过) 90% 当天的种子萌发率。

另外, 借助 SigmaPlot 12.5 软件, 对不同温度下的萌发动态采用含有 3 个参数的非线性回归方程进行曲线拟合作图, 具体公式如下:

$$y = a / \{1 + \exp[-(x - x_{50})/b]\}。$$

式中: y 表示某温度处理下的累计萌发率; a 代表最大萌发率; x 表示处理的时间; x_{50} 表示达到最大萌发率一半时对应的时间; b 代表 x_{50} 附近的曲线斜率。

用 Duncan's 新复极差法比较某环境因子下不同处理、不同生物型间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同温度下 R、S 生物型牛筋草的种子萌发率

不同温度处理下, 牛筋草 R、S 生物型的萌发率随时间的变化趋势如图 1 所示, 萌发率相关参数见表 1。由表 1 可以看出, 处理后 14 d, 牛筋草 R、S 生物型在 15、20、25、30、35、40 °C 恒温条件下均可萌发。在 15 °C 恒温条件下, 牛筋草 R、S 生物型的萌发率较低, 分别为 35.0%、26.7%, R 生物型萌发率显著高于 S 生物型。随温度升高, 牛筋草 R、S 生物

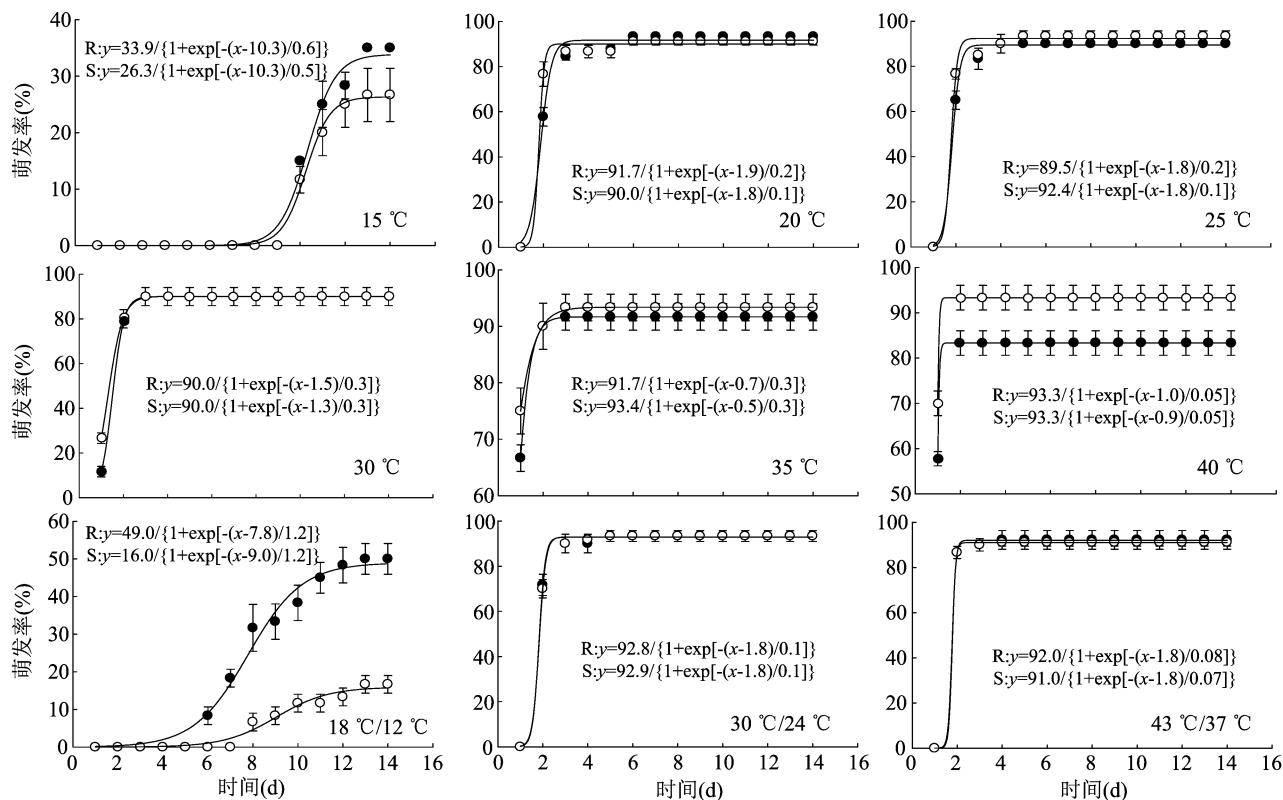


图1 不同温度处理下牛筋草 R(●)和 S(○)生物型的萌发率随时间变化趋势

型的最终萌发率明显提高,在 20、25、30、35 ℃ 恒温条件下最终萌发率在 90.0% ~ 93.3% 之间,R、S 生物型间无显著差异。在 40 ℃ 恒温条件下,R 生物型牛筋草的最终萌发率下降至 83.3%,而 S 生物型牛筋草的最终萌发率为 93.3%,两者差异显著。值得注意的是,在 40 ℃ 恒温条件下,R、S 生物型牛筋草虽然能够萌发,但根芽均无法正常生长,表现出“致死萌发”的现象。

在 18 ℃/12 ℃ 变温处理下,R 生物型牛筋草的最终萌发率为 50.0%,显著高于 S 生物型(16.7%);在 30 ℃/24 ℃ 变温处理下,R、S 生物型

牛筋草的最终萌发率均为 93.3%;在 43 ℃/37 ℃ 变温处理下,R、S 生物型牛筋草的最终萌发率分别为 92.2%、91.1%,且均出现“致死萌发”的现象。

除影响最终萌发率外,不同温度处理对牛筋草的起始萌发时间、萌发速率也有一定影响。在 15 ℃ 恒温下,R、S 生物型牛筋草在处理 10 d 开始萌发,而在 30、35、40 ℃ 恒温条件下,R、S 生物型牛筋草在处理 1 d 即可萌发。在 20、25、30、35 ℃ 恒温条件下,R、S 生物型牛筋草的最终萌发率均在 90% 以上,但其萌发速率随温度升高而增大(表 1)。

表 1 不同温度处理下牛筋草 R、S 生物型的萌发率相关参数

温度 (℃)	最终萌发率 (%)		起始萌发时间 (d)		t_{90}		v	
	R	S	R	S	R	S	R	S
15	35.0 ± 0.0d	26.7 ± 4.7e	10	10				
20	93.3 ± 0.0a	91.1 ± 1.6a	2	2	5.18	5.23	0.19	0.19
25	90.0 ± 0.0a	93.3 ± 2.4a	2	2	3.15	3.20	0.32	0.31
30	90.0 ± 0.0a	90.0 ± 4.1a	1	1	2.09	2.10	0.48	0.48
35	91.7 ± 2.4a	93.3 ± 2.4a	1	1	1.04	1.07	0.96	0.94
40	83.3 ± 2.7b	93.3 ± 2.7a	1	1		1.04		0.96
18/12	50.0 ± 4.1c	16.7 ± 2.4f	6	8				
30/24	93.3 ± 2.4a	93.3 ± 2.4a	2	2	2.05	2.05	0.49	0.49
43/37	92.2 ± 4.2a	91.1 ± 1.6a	2	2	2.30	2.30	0.43	0.43

注:最终萌发率数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。 t_{90} 表示达到 90% 萌发率所需时间; v 表示萌发速率。

2.2 不同光周期下 R、S 生物型牛筋草的种子萌发率

由表 2 可知,在不同光照时长下,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率均在 90% 以上,且两生物型间无显著差异,说明牛筋草 R、S 生物型的种子萌发均不受光周期影响。

物型的种子萌发率均略有下降,但仍保持在 80% 以上。以上结果表明,牛筋草 R、S 生物型对不同 pH 值具有广泛的适应性。

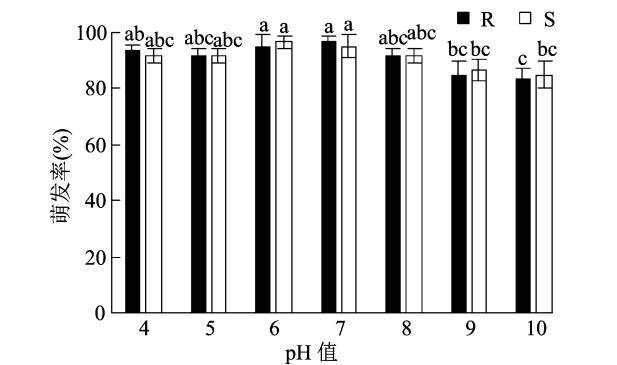


图 2 不同 pH 值处理 14 d 后牛筋草 R、S 生物型的萌发率

表 2 不同光周期处理 14 d 后牛筋草 R、S 生物型的萌发率

光照时长 (h/d)	萌发率 (%)	
	R	S
0	95.0 ± 4.1a	93.3 ± 2.4a
12	93.3 ± 2.4a	96.7 ± 2.4a
24	93.3 ± 4.7a	95.0 ± 4.1a

注:表中数据为平均值 ± 标准差。数据后相同小写字母表示萌发率无显著差异($P > 0.05$)。

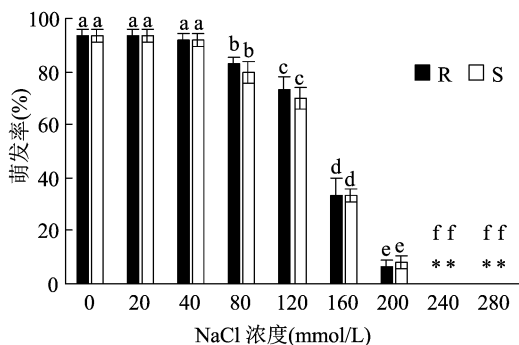
2.3 不同 pH 值处理下 R、S 生物型牛筋草的种子萌发率

由图 2 可以看出,在 pH 值 4.0 ~ 8.0 范围内,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率均在 90% 以上,在相同 pH 值处理下,2 种生物型的牛筋草萌发率无显著差异。在 pH 值 9.0、10.0 处理下,牛筋草 R、S 生

2.4 不同盐浓度处理下 R、S 生物型牛筋草的种子萌发率

由图 3 可以看出,随着盐浓度提高,牛筋草种子的萌发率逐渐降低。当 NaCl 浓度为 20、40 mmol/L 时,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率均在 90% 以上,与空白对照无显著差异;当 NaCl 浓度为

120 mmol/L 时,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率仍达 70% 以上;当 NaCl 浓度为 200 mmol/L 时,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率均降至 10% 以下;当 NaCl 浓度为 240 mmol/L 及以上时,牛筋草种子无法萌发。在相同 NaCl 浓度下,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率未表现出明显差异。



星号(*)表示无萌发, 下图同。

图3 不同盐浓度处理 14 d 后牛筋草 R、S 生物型的萌发率

2.5 不同渗透势条件下 R、S 生物型牛筋草的种子萌发率

由图 4 可以看出,在渗透势 -0.1 MPa 条件下, R、S 生物型牛筋草的萌发率均在 90% 以上,与空白对照无显著差异,说明 -0.1 MPa 的渗透势对牛筋草种子萌发无明显影响。然而,随着渗透势继续降低,牛筋草 R、S 生物型的种子萌发率均显著下降。在渗透势 -0.2 、 -0.3 MPa 条件下, R、S 生物型牛筋草的萌发率分别下降至 85%、75% 左右,2 个生物型间无显著差异。当渗透势为 -0.4 、 -0.5 、 -0.6 MPa 时, R 生物型牛筋草的萌发率显著高于 S 生物型。当渗透势为 -0.7 MPa 时, R、S 生物型牛筋草的萌发率均不足 10%。当渗透势为 -0.8 MPa 时, R、S 生物型的牛筋草均无法萌发,将未萌发的 R、S 生物型种子移入去离子水中 14 d 后发现, R、S 生物型牛筋草的萌发率分别为 88.3%、86.7%。

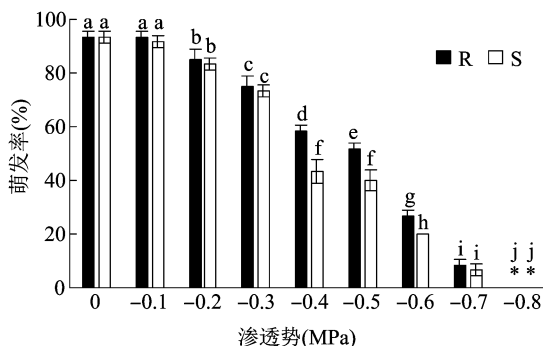


图4 不同渗透势处理 14 d 后牛筋草 R、S 生物型的萌发率

2.6 不同埋藏深度下 R、S 生物型牛筋草的出苗率

在不同埋藏深度下,牛筋草 R、S 生物型的出苗率表现出相似趋势,随着埋藏深度增加,其出苗率显著下降。由图 5 可以看出,当埋藏深度为 0、0.5、1.0 cm 时, R、S 生物型牛筋草的出苗率在 81.7% ~ 91.7% 之间,不同处理间未表现出显著差异;当埋藏深度为 5.0 cm 时, R、S 生物型牛筋草的出苗率分别为 15.0%、13.3%。在相同埋藏深度下, R、S 生物型牛筋草的出苗率无显著差异。

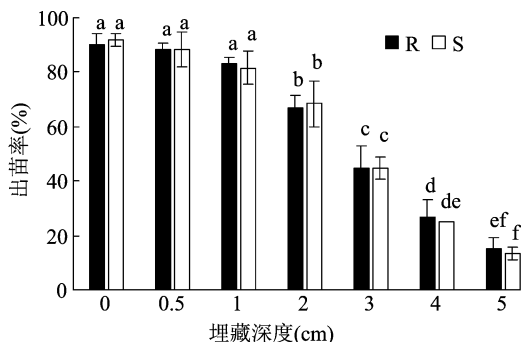


图5 不同埋藏深度处理 21 d 后牛筋草 R、S 生物型的出苗率

3 讨论与结论

种子的萌发需要适宜的温度、光照、水分等条件,同时还受到土壤 pH 值、盐分含量等胁迫因素的影响。本研究通过控制单一变量研究不同环境因子对牛筋草 R、S 生物型种子萌发的影响。有研究发现,温度对杂草种子萌发有较大影响,如越冬性杂草看麦娘 [*Alopecurus aequalis* Sobol.] 在 5 °C 条件下的萌发率达 96%,在 35 °C 条件下无法萌发^[19],而秋熟杂草马唐 [*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.] 在 5 ~ 15 °C 条件下无法萌发,在 30 ~ 40 °C 条件下的萌发率达 70%^[15]。总体来看,牛筋草 R、S 生物型对温度的适应范围较广,20 ~ 35 °C 是较适宜其萌发的温度范围,在此温度范围内 R、S 生物型牛筋草的萌发率无显著差异。除恒温条件外,本研究设置了 3 个变温处理分别模拟华南地区冬季低温、适宜温度及极端高温条件,测定对牛筋草 R、S 生物型萌发率的影响,结果表明 R 生物型在低温条件(18 °C/12 °C 变温和 15 °C 恒温)下的萌发率显著高于 S 生物型。Ismail 等研究发现,马来西亚的草甘膦抗性牛筋草生物型在 20 °C 低温下萌发率显著高于敏感生物型^[20],本研究结果与之较为一致,但其研究未明确抗性生物型的抗性机制。另有研究发现,大穗看麦娘 [*Alopecurus myosuroides* Huds.] 抗性生物型在低

温下的萌发出苗率低于敏感生物型^[21]。

与北方地区相比,华南地区冬季气温温和湿润,牛筋草在冬季仍可存活。以广州市番禺区为例,过去 30 年间(1991—2020 年),平均气温最低的月份为每年 1 月,当月的平均最低气温、平均气温和平均最高气温分别为 11.5、14.6、19.0 ℃^[22]。根据本研究结果,笔者推测,与 S 生物型相比,R 生物型在华南地区冬季低温条件下可更多、更快萌发,从抗性治理角度看,利用该生物学特性,在温度偏低的早春季节对牛筋草进行防治,可能有更高的概率杀死草甘膦抗性植株。另一方面,R、S 生物型在 40 ℃ 恒温 and 43 ℃/37 ℃ 变温条件下萌发速度极快且最终萌发率超过 80%,并出现“致死萌发”的现象,利用此生物学特性,通过“日晒高温覆膜”等途径设法提高土表温度,有利于消耗土壤种子库中的牛筋草种子,减轻其出苗危害。

牛筋草 R、S 生物型的萌发均不受光周期的影响,这与 Ismail 等的研究结果^[20,23]一致,但也有研究表明新采集的牛筋草种子在黑暗条件下的萌发率仅为光暗交替条件下的 1/3 左右^[24],这可能与新收获的种子具有一定的休眠有关。除牛筋草外,棒头草(*Polypogon fugax* Nees ex Steudel.)^[25]、雀麦(*Bromus japonicus* Thunb. ex Murr.)^[26]、马兜瓜(*Cucumis melo* L. var. *agrestis*)^[27]等杂草在不同光照条件下的萌发率也无明显差异,而马唐^[15]、野西瓜苗(*Hibiscus trionum* L.)^[28]、光头稗[*Echinochloa colona* (L.) Link.]^[29]等杂草在黑暗条件下的萌发率显著低于光照条件下的萌发率,藿香蓟(*Ageratum conyzoides* L.)^[30]等杂草在黑暗条件下则完全不萌发。对于牛筋草等对光照不敏感的杂草,增加作物种植密度、减少田间透光率、浅耕可能对其萌发无明显作用,但采取地膜覆盖或秸秆覆盖等控草措施,利用物理屏障作用可使其萌发后无法正常出苗,达到消耗种子库的目的。

有研究表明 pH 值在 5~11 范围内牛筋草的萌发率达 92%~95%^[24],另有研究表明 pH 值在 4~11 范围内牛筋草的萌发率高于 90%,NaCl 浓度为 120 mmol/L 时萌发率达 80%^[23]。本研究中,牛筋草 R、S 生物型的萌发率在 pH 值为 4~10 时萌发率在 80% 以上,NaCl 浓度为 120 mmol/L 时萌发率仍高于 70%,且两生物型间无显著差异。草甘膦抗性多花黑麦草(*Lolium perenne* L. subsp. *multiflorum*)种群在 pH 值为 4~7 时的萌发率显著高于敏感种

群,不同 NaCl 浓度下则无显著差异^[31],而草甘膦抗性光头稗生物型在 pH 值为 4~9 范围内的萌发率无明显变化,在 NaCl 浓度为 100~200 mmol/L 范围内的萌发率显著高于敏感生物型^[29]。一般认为,土壤中 NaCl 浓度达 20 mmol/L 时即被视为土壤盐渍化^[29],因此草甘膦抗性牛筋草(R)生物型在土壤盐碱化程度较高时仍具有萌发能力,并能适应大多数的土壤 pH 值范围,为避免抗性种群的蔓延,应尽量避免抗性牛筋草种子随物流、苗木调运等传播至其他地区。

本研究表明,R、S 生物型的萌发率随溶液渗透势降低呈下降趋势,其中渗透势为 -0.4、-0.5 MPa 时,R 生物型的萌发率显著高于 S 生物型。Ismail 等的研究表明,在渗透势为 -0.2、-0.4 MPa 时,牛筋草抗性生物型的萌发率显著高于敏感生物型^[20]。本研究还发现,在渗透势 -0.8 MPa 条件下未萌发的种子,转移至去离子水中后可继续萌发,说明 -0.8 MPa 的渗透势胁迫条件导致了牛筋草种子的二次休眠,种子通过休眠避开了不利环境因素,仍保持活力。因此,当田间土壤过于干旱时,牛筋草 R、S 生物型可通过休眠躲避不利的环境条件,而当土壤水分恢复时,可快速萌发出苗。在利用土壤处理除草剂或覆盖控草时,保持合适的土壤湿度可能有利于杀死更多的萌发过程中的牛筋草种子。

牛筋草 R、S 生物型的出苗率均随埋藏深度增加呈下降趋势,在 0~2 cm 的表土层萌发率均在 60% 以上,在埋藏深度为 5 cm 时萌发率不足 20%,前人的研究表明埋藏深度大于 6 cm 时牛筋草无法出苗^[24]。根据该生物学特性,在牛筋草危害严重的蔬菜田,若采取翻耕措施,可能有利于减轻牛筋草出苗危害;而在非耕地和果园,一般不进行土壤翻耕,这可能是牛筋草在果园、非耕地等免耕田块大量危害的重要原因之一。然而,因埋藏深度增加未出苗的种子在土壤种子库中的最终命运如何,是在下一个生长季节开始前失去生命力,还是保持休眠直到合适的环境条件出现而重新造成危害,目前尚无定论。

本研究分析比较了基于 *EPSPS* 基因拷贝数差异的草甘膦抗性与敏感牛筋草生物型在不同环境因子下的萌发和出苗特性,并据此探讨了可能的抗性治理策略,研究采用的抗性和敏感材料具有相同地理背景,有助于缩小不同地理种群带来的差异。本研究是在室内控制条件下开展的相关试验,依据

其萌发和出苗特性差异提出的治理策略的可行性和效果需进一步开展田间试验进行验证。

参考文献:

- [1]冯 莉,陈国奇. 南方农田常见杂草原色图谱[M]. 广州:广东科技出版社,2016:54.
- [2]Duke S O. The history and current status of glyphosate[J]. Pest Management Science,2018,74(5):1027–1034.
- [3]中国农药信息网. 农药登记数据[DB/OL]. [2022–12–10]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>.
- [4]张 纯,郭文磊,张泰劼,等. 广东农田杂草防控的问题与对策[J]. 广东农业科学,2020,47(12):98–108.
- [5]Powles S B, Lorraine – Colwill D F, Dellow J J, et al. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia[J]. Weed Science,1998,46(5):604–607.
- [6]Lee L J, Ngim J. A first report of glyphosate – resistant goosegrass [*Eleusine indica* (L.) Gaertn.] in Malaysia[J]. Pest Management Science,2000,56(4):336–339.
- [7]杨彩宏,田兴山,冯 莉,等. 牛筋草对草甘膦的抗药性[J]. 中国农业科学,2012,45(10):2093–2098.
- [8]Chen J C, Huang H J, Zhang C X, et al. Mutations and amplification of *EPSPS* gene confer resistance to glyphosate in goosegrass (*Eleusine indica*) [J]. Planta,2015,242:859–868.
- [9]Zhang C, Feng L, Tian X S. Alterations in the 5' untranslated region of the 5 – enolpyruvylshikimate – 3 – phosphate synthase (*EPSPS*) gene in uence *EPSPS* overexpression in glyphosate – resistant *Eleusine indica* [J]. Pest Management Science, 2018, 74: 2561 – 2568.
- [10]Zhang C, Yu C J, Yu Q, et al. Evolution of multiple target – site resistance mechanisms in individual plants of glyphosate – resistant *Eleusine indica* from China[J]. Pest Management Science,2021, 77:4810–4817.
- [11]Gaines T A, Duke S O, Morran S, et al. Mechanisms of evolved herbicide resistance[J]. Journal of Biological Chemistry,2020,295(30):10307–10330.
- [12]Vila – Aiub M M, Yu Q, Powles S B. Do plants pay a fitness cost to be resistant to glyphosate? [J]. New Phytologist,2019,223(2): 532–547.
- [13]Han H P, Vila – Aiub M M, Jalaludin A, et al. A double *EPSPS* gene mutation endowing glyphosate resistance shows a remarkably high resistance cost [J]. Plant, Cell & Environment, 2017, 40: 3031–3042.
- [14]Li Z L, Li X J, Cui H L, et al. Vegetative and fecundity fitness benefit found in a glyphosate – resistant *Eleusine indica* population caused by 5 – enolpyruvylshikimate – 3 – phosphate synthase overexpression[J]. Frontiers in Plant Science,2021,12:776990.
- [15]郭文磊,张泰劼,张 纯,等. 马唐种子萌发及幼苗建成对不同环境因子的响应[J]. 植物保护,2022,48(2):85–93.
- [16]Chachalis D, Reddy K N. Factors affecting *Campsis radicans* seed germination and seedling emergence [J]. Weed Science,2000,48(2):212–216.
- [17]Michel B E. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes[J]. Plant Physiology,1983,72:66–70.
- [18]Li X J, Zhang M R, Wei S H, et al. Influence of environment factors on seed germination and seedling emergence of yellowtop (*Flaveria bidentis*) [J]. Pakistan Journal of Weed Science Research,2012, 18:317–325.
- [19]Zhao N, Li Q, Guo W L, et al. Effect of environmental factors on germination and emergence of shortawn foxtail (*Alopecurus aequalis*) [J]. Weed Science,2018,66(1):47–56.
- [20]Ismail B S, Chuah T S, Salmijah S, et al. Germination and seedling emergence of glyphosate – resistant and susceptible biotypes of goosegrass [*Eleusine indica* (L.) Gaertn.] [J]. Weed Biology and Management,2022,2:177–185.
- [21]Keshkar E, Mathiassen S K, Beffa R, et al. Seed germination and seedling emergence of blackgrass (*Alopecurus myosuroides*) as affected by non – target – site herbicide resistance [J]. Weed Science,2017,65(6):732–742.
- [22]广州天气. 30 年 (1991—2020) 整编月要素统计 [DB/OL]. [2022–12–10]. <http://www.tqyb.com.cn/gz/climaticprediction/static/>.
- [23]杨彩宏,冯 莉,岳茂峰,等. 牛筋草种子萌发特性的研究[J]. 杂草科学,2009,27(3):21–24.
- [24]Chauhan B S, Johnson D E. Germination ecology of goosegrass (*Eleusine indica*): an important grass weed of rainfed rice [J]. Weed Science,2008,56:699–706.
- [25]Wu X, Li J, Xu H L, et al. Factors affecting seed germination and seedling emergence of Asia minor bluegrass (*Polypogon fugax*) [J]. Weed Science,2015,63(2):440–447.
- [26]Li Q, Tan J N, Li W, et al. Effects of environmental factors on seed germination and emergence of Japanese brome (*Bromus japonicus*) [J]. Weed Science,2015,63(1):1–10.
- [27]Xu H L, Su W C, Zhang D, et al. Influence of environmental factors on *Cucumis melo* L. var. *agrestis* Naud. seed germination and seedling emergence [J]. PLoS One,2017,12(6):e0178638.
- [28]Chachalis D, Korres N, Khah E M. Factors affecting seed germination and emergence of venice mallow (*Hibiscus trionum*) [J]. Weed Science,2008,56(4):509–515.
- [29]Mutti N K, Mahajan G, Chauhan B S. Seed – germination ecology of glyphosate – resistant and glyphosate – susceptible biotypes of *Echinochloa colona* in Australia [J]. Crop & Pasture Science, 2019,70:367–372.
- [30]杜丽思,李 钊,董玉梅,等. 胜红蓟种子萌发/出苗对环境因子的响应[J]. 生态学报,2019,39(15):5662–5669.
- [31]Nandula V K, Poston D H, Reddy K N. Seed germination differences between glyphosate – resistant and – susceptible Italian ryegrass populations [J]. Seed Technology,2009,31(2):122–133.