

研究报告

分离菌株 DT-08C 的鉴定及其除草活性和对作物的安全性

程海洋, 程亮*, 朱海霞, 李娟, 魏有海, 郭青云

青海大学农林科学院植物保护研究所 青海省农业有害生物综合治理重点实验室 农业农村部西宁作物有害生物科学观测实验站, 青海 西宁 810016

程海洋, 程亮, 朱海霞, 李娟, 魏有海, 郭青云. 分离菌株 DT-08C 的鉴定及其除草活性和对作物的安全性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4894-4909.

CHENG Haiyang, CHENG Liang, ZHU Haixia, LI Juan, WEI Youhai, GUO Qingyun. Identification, herbicidal activity, and selectivity of *Fusarium tricinctum* DT-08C[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4894-4909.

摘要:【背景】猪殃殃为作物田的主要恶性杂草之一, 目前的防除仍以化学方法为主, 对人体和环境造成严重危害。微生物除草剂具有靶标性强、对环境安全等优点, 对发展新型农业现代化具有重要的现实意义。【目的】筛选无污染、无危害、强除草的生防菌株, 为微生物除草剂提供新的菌种资源。【方法】通过组织分离法分离纯化菌株, 采用孢子悬浮液测定菌株除草活性和安全性, 运用核糖体内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)和转录延伸因子(EF-1 α , EF-1/EF-2)基因鉴定, 并通过 MEGA 7.0 软件构建系统发育树, 最后通过菌落直径和菌丝干重结合血球记数法分析菌株适宜生长和产孢的环境条件。【结果】经分离纯化筛选获得一株菌, 命名为 DT-08C。经形态学特征和 rDNA ITS 序列分析, 分离菌株 DT-08C 鉴定为芍药镰刀菌(*Fusarium paeoniae*), 命名为 *Fusarium paeoniae* DT-08C。该分离菌株对猪殃殃的致病率达到 47.22%–93.93%, 对蚕豆、豌豆、玉米、白菜、番茄、黄瓜和辣椒安全。最适菌落生长和产孢的培养基分别为 PSA 和燕麦片培养基。【结论】菌株 DT-08C 对猪殃殃的致病性强, 对蚕豆、豌豆、玉米、白菜、番茄、黄瓜和辣椒等作物安全, 对环境的适应性较广, 属于 *F. paeoniae*。上述结果为下一步田间应用提供了菌株资源和试验基础。

关键词: 芍药镰刀菌; 杂草; 除草活性; 作物安全性; 生物学特性; 生物防治

资助项目: 青海省自然科学基金(2022-ZJ-911); 青海省重点实验室项目(2022-ZJ-Y10); 第二次青藏高原综合科学考察研究项目(2019QZKK0303)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Qinghai Province (2022-ZJ-911), the Key Laboratory Project of Qinghai Province (2022-ZJ-Y10), and the Second Qinghai-Xizang Plateau Scientific Expedition and Research (STPE) Program (2019QZKK0303).

*Corresponding author. E-mail: liangcheng1979@163.com

Received: 2023-04-14; Accepted: 2023-07-05; Published online: 2023-09-01

Identification, herbicidal activity, and selectivity of *Fusarium tricinctum* DT-08C

CHENG Haiyang, CHENG Liang^{*}, ZHU Haixia, LI Juan, WEI Youhai, GUO Qingyun

Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests in Xining, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Agricultural Integrated Pest Management of Qinghai Province, Institute of Plant Protection, Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China

Abstract: [Background] *Galium spurium*, one of the main noxious weeds in crop fields, is mainly controlled by chemicals, which causes serious harm to the human body and the environment. Microbial herbicides with precise targets and environmental safety have practical significance for agricultural modernization. [Objective] To screen out the non-polluting and harmless strains with strong weed-controlling activities and provide new strain resources for the development of microbial herbicides. [Methods] The strains were isolated and purified by tissue culture method. The herbicidal activity and selectivity of the isolate were determined by the spore suspension method. Internal transcribed spacer (ITS) and EF-1/EF-2 gene sequencing was used to identify the isolate. The phylogenetic tree was constructed in MEGA 7.0 to reveal the phylogenetic relationship of the strain. Finally, the environmental conditions suitable for growth and sporulation of the strain were analyzed based on colony diameter and mycelial dry weight combined with blood cell counting. [Results] A strain DT-08C was isolated and identified as *Fusarium paeoniae*. The incidence rate of DT-08C infection in *G. spurium* reached 47.22%–93.93%, and the strain was safe to broad bean, pea, maize, Chinese cabbage, tomato, cucumber, and pepper. The optimum media for colony growth and sporulation of DT-08C was PSA and OA, respectively. [Conclusion] *F. paeoniae* DT-08C is highly pathogenic to *G. spurium* but safe to broad bean, pea, maize, Chinese cabbage, tomato, cucumber, and pepper, and it has wide adaptability to the environment. The results provide strain resources for the further field application.

Keywords: *Fusarium paeoniae*; weeds; herbicidal activity; crop safety; biological characteristics; biocontrol

猪殃殃(*Galium spurium*)为茜草科拉拉藤属一年生草本植物, 别名拉拉藤、爬拉殃、八仙草等, 是我国重要的药用植物, 全草可入药, 具有清热解暑、消肿止痛、散瘀等主要价值^[1], 主要分布于中国甘肃、青海、新疆和西藏等地, 同时也是稻田、玉米田、旱地麦田、青稞田及蔬菜田的主要恶性杂草之一^[2-3]。目前猪殃殃的防除仍以化学除草剂为主, 而化学除草剂的大量使用使得水体和

土壤中除草剂的残留量日趋增加, 残留药害已成为目前最严重的环境问题, 对人类健康造成严重威胁^[4-5]。微生物除草剂普遍具有对靶标草专一性强、选择性高且对环境安全和无残留等优点, 对发展绿色农业和生态农业具有重要的现实意义^[6]。

镰刀菌(*Fusarium*)用于杂草的防除范围较广, Tóth 等^[7]通过温室和田间试验表明, 将孢子浓度为 1.0×10^6 个/mL 的 *F. sporotrichioides* 喷施

于叙利亚马利筋(*Asclepias syriaca*), 该真菌的无性孢子对维吉尼亚马利筋具有较强的生物除草活性。Punja^[8]将孢子浓度为 1.0×10^6 个/mL 的 *F. proliferatum* 接种于大麻(*Cannabis sativa*)植株上, 植株 5 d 后出现萎蔫现象, 8 d 后变黄枯萎。Collins 等^[9]将孢子浓度为 1.0×10^5 个/mL 的 *F. species* 接种于生长 6 周的柳枝稷(*Panicum virgatum*)植株 7 d 后, 其植株平均病叶面积达到 42.5%, 同时对柳枝稷种子的萌发产生抑制作用, 其种子萌发率降幅达到 15.4%–42.6%。Motlagh^[10]将浓度为 10^5 个/mL 的 *F. equiseti* 孢子接种于 2–3 叶期的水田稗(*Echinochloa oryzicola*), 初始叶片出现严重斑点, 最终导致植株死亡。Nazer 等^[11]将浓度为 1×10^6 – 1×10^7 个/mL 的 *F. oxysporum* 孢子接种于分枝列当(*Orobanchae aegyptiaca*), 可使分枝列当的生物量显著降低 58%。另外, 在镰刀菌产生的次生代谢产物利用方面, *F. tricinctum* 产生的毒素 4-羟基苯甲醛在对恶性杂草旱雀麦(*Bromus tectorum*)种子萌发和胚芽鞘伸长方面具有较强的抑制作用^[12]。Li 等^[13]报道 *F. proliferatum* 的次生代谢物在浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 对反枝苋(*Amaranthus retroflexus*)的根长抑制率达 83%。Anteyi 等^[14]报道 *F. exometabolites* 的毒素二乙酰镰草镰刀菌烯醇(diacetoxyscirpenol, DAS)在浓度为 1–100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 完全抑制了紫花独脚金(*Striga hermonthica*)的种子萌发。

目前鲜见报道利用芍药镰刀菌(*F. paeoniae*)对猪殃殃的除草性能研究。因此, 本研究以猪殃殃为研究对象, 评估 *F. paeoniae* 分离菌株 DT-08C 对猪殃殃的除草活性及对作物的安全性, 旨在为开发新的微生物除草剂提供菌种资源。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样 品

蜀葵(*Alcea rosea*)植株叶片采集于青海省西宁市, 编号后置于冰箱 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待用。杂草种子猪殃殃采集于西宁市作物有害生物科学观测实验站。作物种子购买于青海河湟种业有限公司。

1.1.2 培 养 基

水琼脂培养基(water agar medium, WA): 琼脂 20.0 g/L; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar medium, PDA) (g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂 20.0; 马铃薯蔗糖琼脂培养基(potato saccharose agar medium, PSA) (g/L): 马铃薯 200.0, 蔗糖 20.0, 琼脂 20.0; 燕麦片培养基(oatmeal agar medium, OA) (g/L): 燕麦片 30.0, 琼脂 20.0; 玉米粉琼脂培养基(cornmeal agar medium, CA) (g/L): 玉米粉 30.0, 琼脂 20.0; 察氏培养基(Czapek dox agar medium, Czapek) (g/L): NaNO_3 3.00, KH_2PO_4 1.00, MgSO_4 0.50, KCl 0.50, FeSO_4 0.01, 蔗糖 30.00, 琼脂 20.00; 理查德合成琼脂培养基(Richard's synthetic agar medium, Richard) (g/L): KNO_3 10.00, KH_2PO_4 5.00, MgSO_4 2.50, FeCl_3 0.02, 琼脂 20.00。

1.1.3 主要试剂和仪器

75%酒精、3% NaClO 、Tween-80, 上海国药集团化学试剂有限公司; 真菌 DNA 提取试剂盒, 生工生物工程(上海)股份有限公司。恒温培养箱, 青岛明博环保科技有限公司; 恒温振荡器, 上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 病原菌的分离纯化

取蜀葵真菌叶斑病的新鲜病叶, 选择典型的单个病斑, 用解剖刀从病斑边缘(病健交界处)切取小块(5 mm \times 5 mm)病组织数块, 依次在 2% NaClO 和 75%酒精中浸泡 30 s, 取出后用无菌

水冲洗 3 次, 接种于 PDA 培养基上, 28 °C 恒温培养 3–5 d^[15]。经单孢分离得到纯化菌株, 命名为 DT-08C。

1.3 病原菌孢子悬浮液的制备

将分离菌株 DT-08C 用打孔器打取菌饼 ($\Phi=8$ mm), 接种于 PSA 培养基中, 于 25 °C 光周期 16 h:8 h (L:D) 条件下培养 7 d 后, 用灭菌接种铲将其菌落刮取到无菌离心管中, 添加无菌水至 10 mL, 振荡后制成孢子悬浮液。

1.4 离体叶片致病性测试

采集新鲜无病虫的猪殃殃叶片, 用 75% 酒精消毒处理, 叶片正置于规格为 9 cm 的培养皿中, 将 25 °C 培养 7 d 后的分离菌株接种于猪殃殃叶片上, 以 PSA 培养基块为空白对照组, 接种后叶片置于温度 (25±1) °C、相对湿度 (relative humidity, RH) 60%±10% 环境下培养 7 d, 参照文献 [16] 的分级标准调查叶片发病情况, 每处理重复 3 次。1 级: 无病; 2 级: 0≤病斑面积 < 1/3; 3 级: 1/3≤病斑面积 < 1/2; 4 级: 1/2≤病斑面积 < 2/3; 5 级: 2/3≤病斑面积 ≤ 1。

1.5 温室盆栽试验测试

播前将猪殃殃种子用 1% 的 NaClO 消毒处理, 每钵点播 20 粒, 待幼苗长至 4–6 片真叶时, 以 30 mL/钵接种量进行喷雾接种 (浓度为 10⁴ 孢子/mL, 含 0.5 mL Tween-80)。空白对照组以清水加 0.5 mL Tween-80, 接种后置于温度 (25±1) °C、相对湿度 (RH) 60%±10% 环境下培养 7 d, 观察并记录植株的发病情况。参照文献 [17] 进行病情分级并计算发病率、病情指数和鲜重防效。1 级: 无病; 2 级: 0≤病斑面积 < 1/4; 3 级: 1/4≤病斑面积 < 1/2; 4 级: 1/2≤病斑面积 < 3/4; 5 级: 3/4≤病斑面积 < 1。

1.6 分离菌株 DT-08C 孢子悬浮液对猪殃殃的温室盆栽防效测定

将分离菌株 DT-08C 孢子悬浮液浓度梯度分别稀释至 3.92×10¹、3.92×10²、3.92×10³ 和

3.92×10⁴ 孢子/mL, 对杂草猪殃殃进行温室盆栽防效测定。方法同 1.5。

1.7 作物安全性评价

参照 1.5 方法对作物进行喷雾接种处理, 发病等级参照文献 [17]。1 级: 无病斑, 0≤病情指数 < 5, 等级为安全 (no symptom, NS); 2 级: 0≤病斑面积 < 1/4, 5≤病情指数 < 10, 等级为轻微反应 (lightly susceptible, LS); 3 级: 1/4≤病斑面积 < 1/2, 10≤病情指数 < 50, 等级为中等感病 (moderately susceptible, MS); 4 级: 1/2≤病斑面积 < 3/4, 病情指数 > 50, 等级为严重感病 (severely susceptible, SS)。

1.8 病原菌的鉴定

1.8.1 形态学鉴定

将分离菌株 DT-08C 置于 PSA 培养基 (25±1) °C、光周期 16 h:8 h (L:D) 条件下培养 7 d 后, 参考文献 [18] 观察菌落形态结构, 对其进行初步鉴定。

1.8.2 分子生物学鉴定

将分离菌株 DT-08C 在 PSA 培养基中于 (25±1) °C、光周期 16 h:8 h (L:D) 条件下培养 7 d 后, 用灭菌接种铲刮取菌丝, 采用真菌 DNA 提取试剂盒提取其基因组 DNA, 使用引物对 ITS1/ITS4 和 EF-1/EF-2 (表 1) 扩增分离菌株基因组核糖体内转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 和镰刀菌转录延伸因子 (EF-1 α , EF-1/EF-2) 的基因序列。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 反应体系 (25 μ L): 2×PCR Master Mix 12.5 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 1.0 μ L, DNA 模板 (50 ng/ μ L) 1.0 μ L, ddH₂O 补足 25 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 94 °C 30 s, 57 °C 30 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 收集样品送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司测序, 获得的序列进行 BLAST 同源性比对, 使用 MEGA 7.0 软件以邻接法构建系统发育树, bootstrap 检验次数为 1 000 次。

表 1 本研究所用引物信息

Table 1 Information of primers used in this study

基因	引物	序列	产物大小
Gene	Primer	Sequence (5'→3')	Product size (bp)
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	536
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
EF	EF-1	ATGGGTAAGGAGGACAAGA	704
	EF-2	CGGAAGTACCAGTGATCATG	

1.9 菌株的生物学特性研究

1.9.1 培养基对菌丝生长和产孢量的影响

将分离菌株 DT-08C 分别接种于上述 7 种培养基, 配制方法同 1.1.2。于 25 °C 恒温培养 7 d, 用游标卡尺以十字交叉法测量菌落直径^[19], 并拍照记录菌株形态, 将菌丝刮下后放到 50 °C 烘箱中烘至恒重, 在分析天平上准确称量^[20]; 参照上述方法, 14 d 后测定其产孢量, 测定方法同 1.3。每处理重复 3 次。

1.9.2 温度对菌丝生长和产孢量的影响

将分离菌株 DT-08C 接种于 PSA 培养基, 置于 5–40 °C 的恒温培养箱中, 7 d 后测量菌落直径; 参照上述方法, 将菌株接种于燕麦片培养基上, 培养 14 d 后测定其产孢量, 测定方法同 1.3。每处理重复 3 次^[21-22]。

1.9.3 初始 pH 对菌丝生长和产孢量的影响

利用 HCl 和 NaOH 溶液(0.1 mol/L)配制初始 pH 值为 3.0–12.0 的 PSA 培养基, 于 7 d 测量菌落直径; 参照上述方法, 将菌株接种于燕麦片培养基上, 培养 14 d 后测定其产孢量。方法同

1.3。每处理重复 3 次^[23]。

1.9.4 光源对菌丝生长和产孢量的影响

将菌株 DT-08C 菌饼接种于 PSA 培养皿中央, 接种后分别放置在 24 h 光照、24 h 黑暗、12 h 光照/12 h 黑暗、24 h 黑光灯处理、24 h 紫光处理条件下, 25 °C 培养 7 d 后用游标卡尺以十字交叉法测量菌落直径; 参照上述方法, 将菌株接种于燕麦片培养基, 25 °C 培养 14 d 后测定其产孢量。每处理重复 3 次。

1.10 数据处理

利用 SPSS 18.0 软件和 Duncan 氏新复极差法进行数据统计分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 离体叶片致病性测定结果

分离菌株 DT-DYLC、DT-XRKA、DT-YSB1、DT-QKBD004A 和 DT-14A2 分别接种 7 d 后(表 2), 接种部位叶片萎蔫、卷曲, 发病率分别为 31.70%、27.60%、24.34%、30.68% 和 28.59%, 病级为 2 级。

表 2 七株分离菌株对猪殃殃的离体叶片发病率

Table 2 Disease incidence of seven isolated strains detached leaves of *Galium spurium*

菌株编号	叶片面积	病斑面积	发病率
Strain No.	Leaf area (cm ²)	Canker area (cm ²)	Disease incidence (%)
DT-DYLC	6.34	2.01	31.70±1.66c
DT-XRKA	6.63	1.83	27.60±1.85d
DT-YSB1	6.78	1.65	24.34±0.83e
DT-QKBD004A	6.16	1.89	30.68±1.59c
DT-08C	6.55	4.18	63.82±1.32a
DT-14A2	6.19	1.77	28.59±1.98d
DT-04A2	6.39	2.88	45.07±0.95b
CK	6.88	0.00	

数据为平均值±标准误, 不同小写字母表示具有显著差异($P<0.05$)。下同

Data were presented as mean±standard error, data with different lowercase letters indicated significant difference ($P<0.05$). The same below.

分离菌株 DT-08C 接种后, 猪殃殃叶片边缘出现病斑, 接种部位中心腐烂, 发病率为 63.82%, 病级为 4 级。分离菌株 DT-04A2 接种后, 接种部位布满粉红色菌丝, 叶片出现萎蔫、卷曲现象, 发病率为 45.07%, 病级为 3 级。

2.2 温室盆栽防效

分别喷施分离菌株 DT-DYLC、DT-14A2 和 DT-04A2 菌株孢子悬浮液 7 d 后(图 1), 植株茎叶干枯, 生长停滞, 发病症状加重, 3/4 以上的叶片出现病斑, 发病率分别为 75.00%、79.89% 和 79.73%。DT-YSB1 喷施 7 d 后, 植株叶片萎

蔫, 叶片上有零星的斑点, 发病率为 27.78%。DT-QKBD004A 喷施 7 d 后, 部分茎叶干枯, 1/2 以上的叶片出现病斑, 植株生长受到抑制, 发病率为 63.89%。DT-08C 和 DT-XRKA 分别喷施 7 d 后, 植株 3/4 以上的叶片出现病斑, 植株发病严重, 致病效果明显, 发病率分别达 88.22%和 84.78%。

分离菌株 DT-08C 与 DT-14A2、DT-04A2、DT-DYLC、DT-QKBD004A、DT-YSB1 菌株的发病率、病情指数和鲜重防效相比, 差异显著 ($P<0.05$) (表 3)。筛选出对猪殃殃致病性最好的分离菌株为 DT-08C。

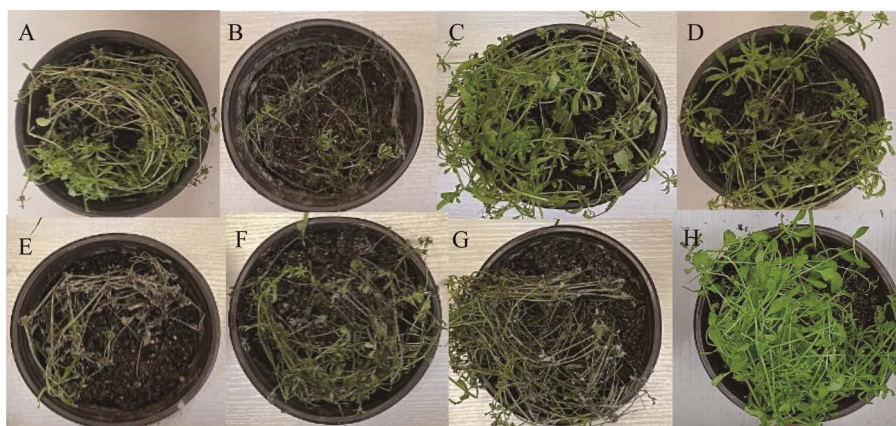


图 1 七株分离菌株孢子悬浮液对猪殃殃的活体盆栽致病性 A: 菌株 DT-DYLC. B: 菌株 DT-XRKA. C: 菌株 DT-YSB1. D: 菌株 DT-QKBD004A. E: 菌株 DT-08C. F: 菌株 DT-14A2. G: 菌株 DT-04A2. H: 对照
Figure 1 Pathogenicity of seven isolated strains to living potting of *Galium spurium*. A: Strain DT-DYLC. B: Strain DT-XRKA. C: Strain DT-YSB1. D: Strain DT-QKBD004A. E: Strain DT-08C. F: Strain DT-14A2. G: Strain DT-04A2. H: Control.

表 3 七株分离菌株孢子悬浮液对猪殃殃的致病力

Table 3 Pathogenicity of spore suspensions of seven isolated strains to *Galium spurium*

菌株编号 Strain No.	发病率 Disease incidence (%)	病情指数 Disease index	鲜重 Fresh weight (g)	鲜重防效 Fresh weight efficiency (%)
DT-08C	88.22±2.21a	94.45±3.23a	1.92±1.24e	87.90±1.87a
DT-XRKA	84.78±2.78a	88.19±3.56a	2.26±1.87e	85.76±1.38a
DT-14A2	79.89±3.27b	61.81±1.47b	2.92±2.66e	81.60±3.12b
DT-04A2	79.73±1.39b	40.97±4.76c	3.18±2.58de	79.95±2.52b
DT-DYLC	75.00±3.69bc	39.58±3.57cd	4.38±3.77d	72.38±2.77c
DT-QKBD004A	63.89±1.78c	30.56±4.32d	6.26±2.41c	60.58±4.88d
DT-YSB1	27.78±2.64d	11.80±2.43e	11.82±3.72b	25.55±2.55e
CK			15.87±1.37a	

2.3 不同浓度 DT-08C 菌株孢子悬浮液对猪殃殃的盆栽致病效果分析

喷施菌株 DT-08C 孢子悬浮液 7 d 后(图 2, 表 4), 3.92×10^4 孢子/mL 浓度处理的猪殃殃植株发病最为严重, 叶片大量干枯死亡, 发病率、病情指数和鲜重防效分别达 93.93%、90.32 和 89.69%。 3.92×10^3 孢子/mL 浓度处理的植株叶片有零星病斑分布, 发病率、病情指数和鲜重防效分别达 47.22%、45.43 和 41.19%。 3.92×10^4 孢子/mL 处理的发病率、病情指数和鲜重仿效与 10^3 、 10^2 和 10^1 处理相比, 差异显著($P < 0.05$)。

2.4 分离菌株 DT-08C 对不同作物安全性分析

将浓度为 3.92×10^4 孢子/mL 的菌株 DT-08C 孢子悬浮液接种于测试作物 7 d 后(图 3, 表 5), 蚕豆、豌豆、玉米、白菜、番茄、黄瓜和辣椒

发病率和病情指数为 0, 安全等级为 NS; 被接种的小麦和青稞植株叶片上有零星病斑分布, 发病率和病情指数分别为 9.45%、7.67 和 9.33%、6.43, 安全等级为 LS; 被接种的菠菜和萝卜中等感病, 病斑面积为 1/4–1/2, 发病率为 31.56%和 35.71%, 安全等级为 MS; 被接种的油菜感病严重, 病斑面积达 1/2–3/4, 发病率和病情指数达 65.83%和 51.60, 安全等级为 SS。

2.5 分离菌株的鉴定分类

2.5.1 形态学鉴定结果

分离菌株 DT-08C 在 PSA 培养基上培养 7 d 后, 菌丝棉絮状, 初期为白色, 后期于菌落边缘逐渐变为黄色, 直至整个平板(图 4A)。菌丝红褐色, 分枝呈树杈状(图 4B)。大型分生孢子

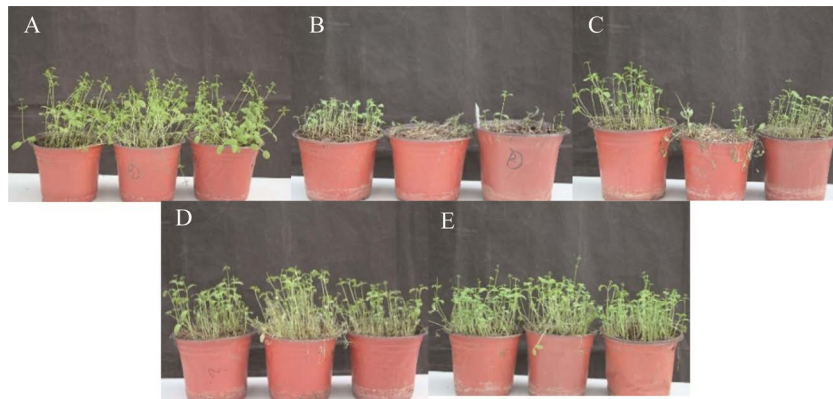


图 2 分离菌株 DT-08C 不同浓度孢子悬浮液对猪殃殃致病的影响(接种后 7 d) A: 对照. B: 3.92×10^4 孢子/mL. C: 3.92×10^3 孢子/mL. D: 3.92×10^2 孢子/mL. E: 3.92×10^1 孢子/mL

Figure 2 Effect of different concentrations of spore suspensions from strain DT-08C on *Galium spurius* (7 d after inoculation). A: Control. B: 3.92×10^4 spores/mL. C: 3.92×10^3 spores/mL. D: 3.92×10^2 spores/mL. E: 3.92×10^1 spores/mL.

表 4 接种分离菌株 DT-08C 不同孢子悬浮液浓度对猪殃殃的致病力

Table 4 Pathogenicity of different spore suspension concentration of strain DT-08C to *Galium spurius*

浓度 Concentration (spores/mL)	发病率 Disease incidence (%)	病情指数 Disease index	鲜重 Fresh weight (g)	鲜重防效 Fresh weight efficiency (%)
3.92×10^4	93.93±3.12a	90.32±1.33a	1.54±1.77d	89.69±0.44a
3.92×10^3	78.45±1.32b	68.55±0.89b	4.60±1.21cd	69.28±4.22b
3.92×10^2	63.13±4.18c	60.39±1.37b	5.93±2.62c	60.33±2.12b
3.92×10^1	47.22±2.44d	45.43±1.65c	8.80±1.35b	41.19±1.56c
CK			14.96±1.43a	



图3 分离菌株 DT-08C 孢子悬浮液对作物安全性的影响 A: 油菜‘青杂 5 号’(左, 对照; 右, 处理.下同). B: 蚕豆‘青海 9 号’. C: 豌豆‘草原 224 号’. D: 小麦‘青春 38 号’. E: 青稞‘昆仑 18 号’. F: 玉米‘青玉 517 号’. G: 白菜‘浙白 6 号’. H: 番茄‘博玉 368 号’. I: 黄瓜‘中农 5 号’. J: 菠菜‘华菠 1 号’. K: 辣椒‘中椒 4 号’. L: 萝卜‘春白 2 号’

Figure 3 Effect of strain DT-08C spore suspension on crop safety. A: *Brassica napus* ‘Qingza 5’ from control (left) and treatment (right). The same below. B: *Vicia faba* ‘Qinghai 9’. C: *Pisum sativum* ‘Caoyuan 224’. D: *Triticum aestivum* ‘Qingchun 38’. E: *Hordeum vulgare* ‘Kunlun 18’. F: *Zea mays* ‘Qingyu 517’. G: *Brassica campestris* ‘Zhebai 6’. H: *Solanum lycopersicum* ‘Boyu 368’. I: *Cucumis sativus* ‘Zhongnong 5’. J: *Spinacia oleracea* ‘Huabo 1’. K: *Capsicum annuum* ‘Zhongjiao 4’. L: *Raphanus sativus* ‘Chunbai 2’.

长 40–70 μm , 宽 8–12 μm , 无隔膜, 白色, 呈镰刀状(图 4C)。根据形态学特征, 将分离的病原菌初步鉴定为镰刀菌属(*Fusarium*)。

2.5.2 分子生物学鉴定结果

PCR 扩增获得 DT-08C 菌株的 rDNA ITS 序列和 EF-1/EF-2 基因序列, 长度分别为 536 bp 和 704 bp, GenBank 登录号分别为 OQ777148 和 OQ779190。

并与登录号为 OP699815.1、OP699813.1、OP699812.1 和 OP699811.1 的芍药镰刀菌系统发育树聚在较小同一分支(图 5A)。基于 EF-1/EF-2 基因序列的系统发育分析结果表明, 分离菌株 DT-08C 与登录号为 OP715608.1、OP715607.1 和 OP715606.1 的芍药镰刀菌聚于同一分支(图 5B)。最终将分离菌株 DT-08C 鉴定为芍药镰刀菌, 命名为芍药镰刀菌 DT-08C。

表 5 菌株 DT-08C 孢子悬浮液对作物发病率和病情指数的影响

Table 5 Effect of strain DT-08C spore suspension on the disease incidence and disease index of crop

作物 Crops	发病率 Disease incidence (%)	病情指数 Disease index	安全性等级 Safety grade
油菜‘青杂 5 号’ <i>Brassic anapus</i> ‘Qingza 5’	65.83	51.60	SS
小麦‘青春 38 号’ <i>Triticum aestivum</i> ‘Qingchun 38’	9.45	7.67	LS
青稞‘昆仑 18 号’ <i>Hordeum vulgare</i> ‘Kunlun 18’	9.33	6.43	LS
蚕豆‘青海 9 号’ <i>Vicia faba</i> ‘Qinghai 9’	0.00	0.00	NS
豌豆‘草原 224 号’ <i>Pisum sativum</i> ‘Caoyuan 224’	0.00	0.00	NS
玉米‘青玉 517 号’ <i>Zea mays</i> ‘Qingyu 517’	0.00	0.00	NS
白菜‘浙白 6 号’ <i>Brassia campestris</i> ‘Zhebai 6’	0.00	0.00	NS
番茄‘博玉 368’ <i>Solanum lycopersicum</i> ‘Boyu 368’	0.00	0.00	NS
黄瓜‘中农 5 号’ <i>Cucum issativus</i> ‘Zhongnong 5’	0.00	0.00	NS
菠菜‘华菠 1 号’ <i>Spinacia oleracea</i> ‘Huabo 1’	31.56	29.85	MS
辣椒‘中椒 4 号’ <i>Capsicum annum</i> ‘Zhongjiao 4’	0.00	0.00	NS
萝卜‘春白 2 号’ <i>Raphanus sativus</i> ‘Chunbai 2’	35.71	36.68	MS



图 4 分离菌株 DT-08C 的形态特征 A: 菌落. B: 分生孢子梗. C: 分生孢子

Figure 4 Morphological characteristics of isolated strain DT-08C. A: Colony. B: Conidiophore. C: Conidium.

2.6 分离菌株 DT-08C 的生物学特性

2.6.1 培养基对菌丝生长和产孢量的影响结果

结合菌落直径和菌丝干重综合分析(图 6, 图 7), 以水琼脂培养基作为对照, 于 25 °C 的恒温培养箱中培养 7 d 后, 接种的 6 种培养基对其菌落直径和菌丝干重均具有不同程度的影响。其中玉米粉培养基上的菌落直径最大, 达 65.32 mm, 但菌丝干重较低, 为 0.023 g; 其次为燕麦片培养基、PDA 和 PSA 培养基上的菌落直径较大, 菌落直径分别达 58.63、58.55 和 56.47 mm, 菌丝干重方面 PSA 培养基较燕麦片和 PDA 培养基高, 达 0.047 g。综上所述, 在

PSA 培养基中菌落直径和菌丝干重显著高于其他培养基, 因此 PSA 培养基为芍药镰刀菌 DT-08C 菌株菌丝生长的最适培养基。

从图 8 可见, 当生长于燕麦片培养基上时, 菌株的产孢量显著高于其他培养基, 达到 6.08×10^5 孢子/mL; 其次是在 PDA 和 PSA 培养基上产孢数量较多, 分别为 3.98×10^5 孢子/mL 和 3.87×10^5 孢子/mL; 生长于水琼脂、玉米粉、Czapek 和 Richard 培养基上时产孢量较少。不同培养基营养成分不同, 对菌株产孢所需要的营养物质满足程度不一样。结果表明芍药镰刀菌 DT-08C 的最适培养基为燕麦片培养基。

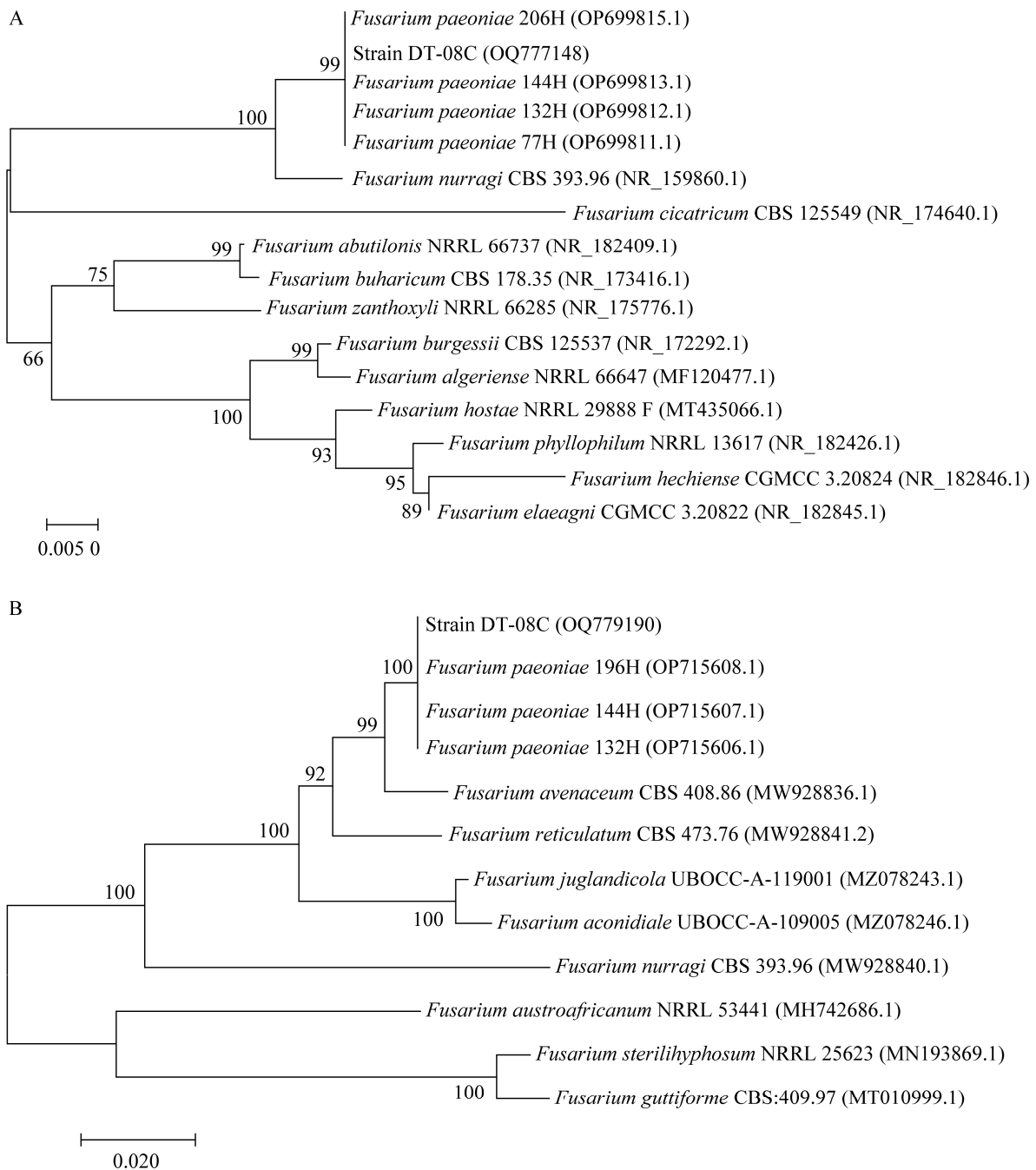


图 5 基于 rDNA ITS 序列(A)和 EF-1/EF-2 (B)基因序列以邻接法构建的分离菌株 DT-08C 及其相关菌株的系统发育树 括号中的序号代表 GenBank 登录号; 分支点上的数字代表该分支的 bootstrap 值; 标尺表示进化距离

Figure 5 Phylogenetic tree of isolated strain DT-08C and related species constructed by neighbor-joining analyses based on the rDNA ITS (A) and EF-1/EF-2 (B) genes sequences. The serial number in brackets represents the GenBank accession number. The number on the branch point indicates the bootstrap value of the branch. The ruler represents evolutionary distances.

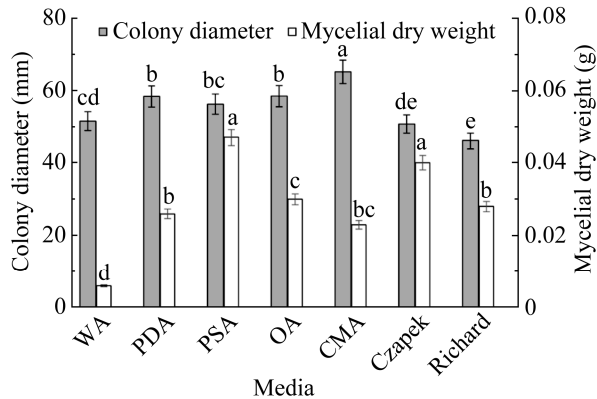


图6 不同培养基对芍药镰刀菌 DT-08C 菌丝生长的影响 不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著. 下同

Figure 6 The mycelium growth of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown on different medium. Data with different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level. The same below.

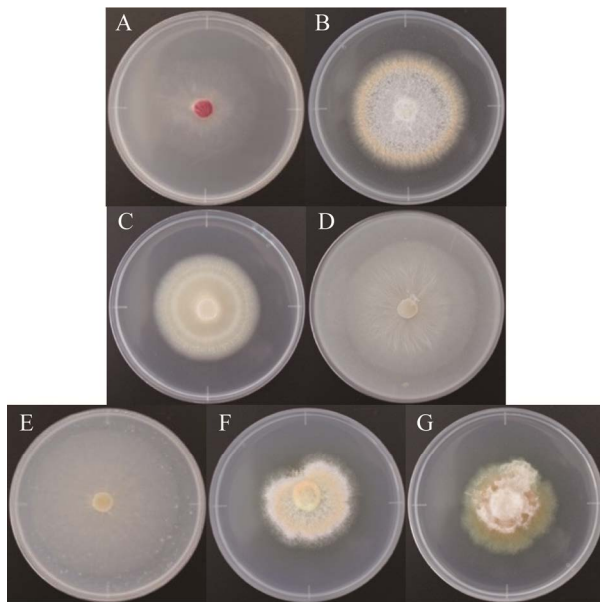


图7 芍药镰刀菌 DT-08C 在不同培养基上的菌丝生长 A: 水琼脂培养基. B: PDA 培养基. C: PSA 培养基. D: 燕麦片培养基. E: 玉米粉培养基. F: Czapek 培养基. G: Richard 培养基

Figure 7 Mycelial growth of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown on different medium. A: Water agar medium. B: Potato dextrose agar medium. C: Potato saccharose agar medium. D: Oatmeal agar medium. E: Cornmeal agar medium. F: Czapek medium. G: Richard's synthetic agar medium.

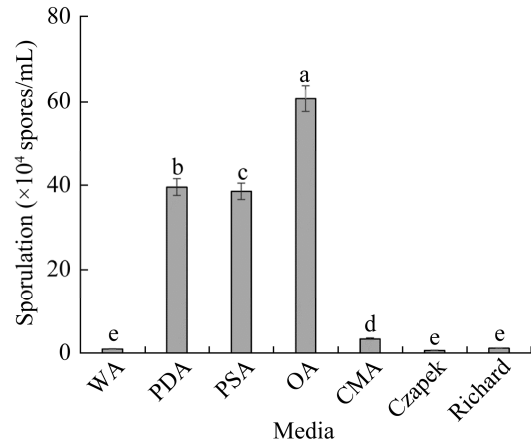


图8 不同培养基上芍药镰刀菌 DT-08C 的产孢量
Figure 8 Spore production of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown on different medium.

2.6.2 温度对菌丝生长和产孢量的影响结果

如图9所示, DT-08C 在 5–40 °C 的范围内均可生长, 当温度为 30 °C 时菌株 DT-08C 菌丝直径和菌丝干重均显著高于其他处理组, 达到 60.15 mm 和 0.054 g。当温度低于或高于 30 °C 时, 菌丝生长直径和菌丝干重均会降低。当温度为 35 °C 时菌株生长受到严重抑制, 菌丝直径和菌丝干重分别为 31.44 mm 和 0.024 g。表明芍药镰刀菌 DT-08C 的最适生长温度为 30 °C。

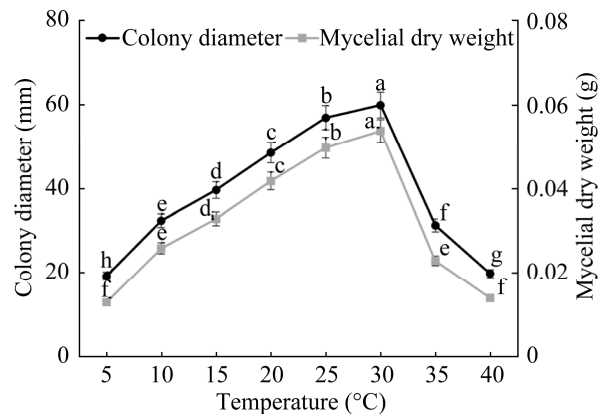


图9 温度对芍药镰刀菌 DT-08C 菌丝生长的影响
Figure 9 The mycelium growth of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown on different temperature.

如图 10 所示, 当温度在 5–30 °C 之间时, 随着温度的逐渐升高, 菌株产孢量逐渐增大; 当温度在 25–30 °C 时产孢量最大, 分别达 6.55×10^5 孢子/mL 和 6.59×10^5 孢子/mL; 之后随着温度的升高, 菌株的产孢量逐渐下降; 当温度为 40 °C 时仍可产生部分孢子, 为 1.24×10^5 孢子/mL。结果表明芍药镰刀菌 DT-08C 的最适产孢温度为 25–30 °C。

2.6.3 培养基初始 pH 对菌丝生长和产孢量的影响结果

如图 11 所示, DT-08C 在培养基初始 pH 3.0–12.0 内均可生长, 当初始 pH 7.0 时菌落

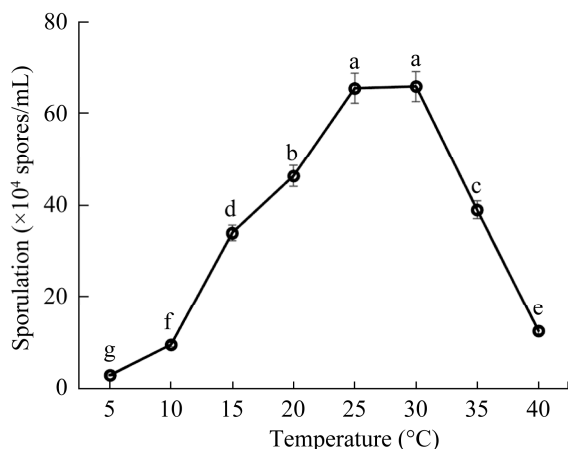


图 10 不同温度时芍药镰刀菌 DT-08C 的产孢量
Figure 10 Spore production of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown at different temperature.

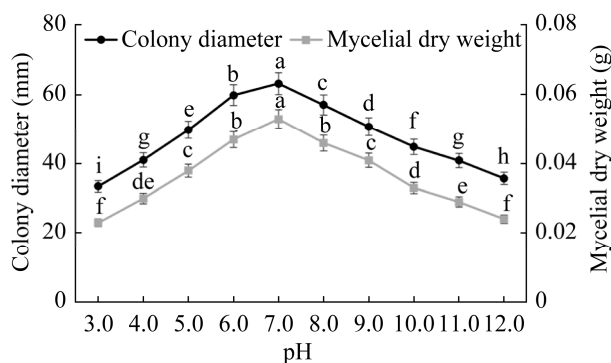


图 11 培养基初始 pH 条件对芍药镰刀菌 DT-08C 菌丝生长的影响

Figure 11 The mycelium growth of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown at different initial pH.

直径和菌丝干重最大, 分别达 63.18 mm 和 0.053 g。当初始 pH 值升高或降低时, 菌丝生长直径和菌丝干重均会降低。当初始 pH 12.0 时菌落直径和菌丝干重分别降至 35.75 mm 和 0.024 g。可见中性条件即初始 pH 7.0 更适合芍药镰刀菌 DT-08C 菌株菌落的生长。

如图 12 所示, 初始 pH 3.0–12.0 范围内 DT-08C 菌株均可产孢, 但不同初始 pH 值对 DT-08C 产孢量有着显著影响。当初始 pH 7.0 时产孢量最大, 达 6.68×10^5 孢子/mL; 当初始 pH > 7.0 时产孢量逐渐下降; 当初始 pH 12.0 时产孢量显著低于其他处理组, 为 0.6×10^4 孢子/mL。结果表明芍药镰刀菌 DT-08C 的最适产孢初始 pH 值为 7.0。

2.6.4 光源对菌丝生长和产孢量的影响结果

如图 13 所示, 光源条件对 DT-08C 菌株菌丝生长产生一定的影响。当光源条件为 24 h 光照时, 菌落直径和菌丝干重均显著高于其他处理组, 达 72.51 mm 和 0.064 g; 当光源条件为 24 h 紫光灯处理时, 菌落直径和菌丝干重最低, 为 45.55 mm 和 0.026 g。结果表明芍药镰刀菌 DT-08C 最适生长光源条件为 24 h 光照处理。

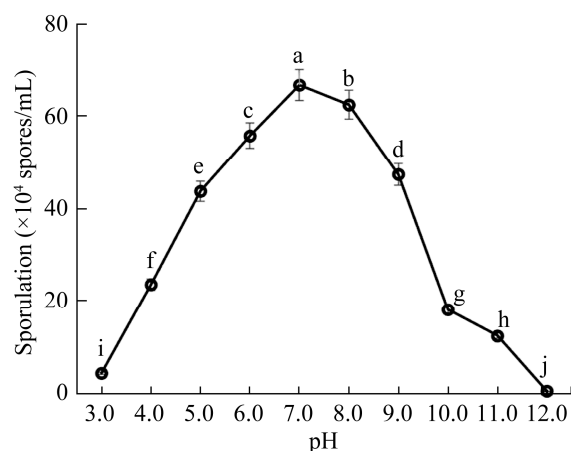


图 12 不同初始 pH 时芍药镰刀菌 DT-08C 的产孢量
Figure 12 Spore production of *Fusarium paeoniae* DT-08C grown at different initial pH.

如图 14 所示, DT-08C 菌株产孢受光源的影响较为显著。当光源分别为 24 h 黑光灯和 24 h 紫光灯时, 菌株的产孢量最大, 分别达 6.81×10^5 孢子/mL 和 6.73×10^5 孢子/mL。当光源为 24 h 光照时, 菌

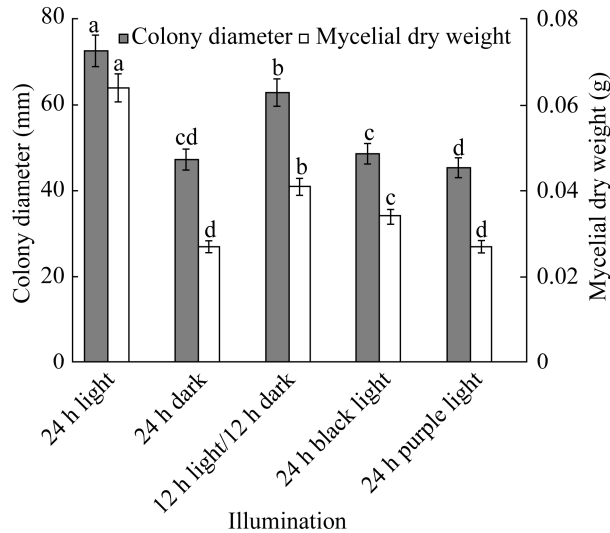


图 13 光源条件对芍药镰刀菌 DT-08C 菌丝生长的影响

Figure 13 The mycelium growth of *Fusarium paeoniae* DT-08C under different illumination.

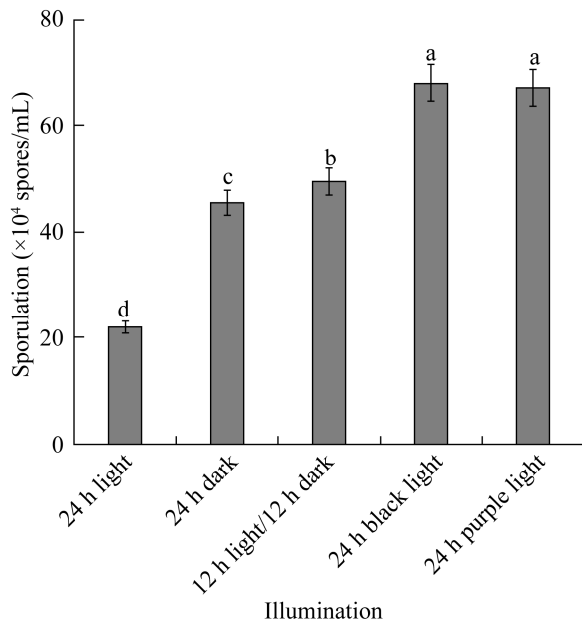


图 14 不同光源时芍药镰刀菌 DT-08C 的产孢量

Figure 14 Spore production of *Fusarium paeoniae* DT-08C under different illumination.

株的产孢量最低, 为 2.21×10^5 孢子/mL。结果表明芍药镰刀菌 DT-08C 的最适产孢光源为 24 h 黑光灯和 24 h 紫光灯处理。

3 讨论与结论

目前, 猪殃殃的防除仍以双氟磺草胺、苯磺隆、唑草酮和氯氟吡氧乙酸等化学除草剂为主^[24-26], 但化学除草剂的大量使用造成了严重的环境和食品安全等问题, 因此发掘新型微生物除草剂来防除作物田间猪殃殃已经成为目前研究的重点。本研究以杂草猪殃殃为防除对象, 从 7 株分离菌株中筛选获得一株具有生防潜力的菌株 DT-08C, 对猪殃殃的鲜重防效达到 89.69%。

除草剂候选菌株的安全性和有效性是衡量微生物除草剂的 2 个重要指标^[27]。菌株 DT-08C 浓度为 3.92×10^4 孢子/mL 时可以在以猪殃殃为优势杂草的蚕豆、豌豆和玉米等作物田和白菜、番茄、黄瓜、辣椒等蔬菜田中安全使用, 但要在油菜、小麦、青稞、菠菜和萝卜田谨慎使用。

镰刀菌属具有寄主范围广和致病力强等特点, 是一类全球范围广泛分布且重要的真菌病害之一, 可侵染 100 多种寄主植物, 阻碍植物的正常养分供给, 引起植物萎蔫死亡^[28-30]。已报道用于农田杂草防除的镰刀菌种类主要有禾谷镰刀菌 (*F. graminearum*)、三线镰刀菌 (*F. tricinctum*)、串珠镰刀菌 (*F. moniliforme*)、燕麦镰刀菌 (*F. avenaceum*) 和茄病镰刀菌 (*F. solani*) 等^[31-35]。本研究结合形态学和分子生物学鉴定结果, 最终确定分离菌株 DT-08C 为芍药镰刀菌。

真菌除草剂只有在最适的环境条件下才能引起杂草病害, 从而达到良好的防效^[36-38]。因此, 明确分离菌株的生物学特性才能够更好地发挥菌株的生防潜力。本试验以菌落直径和菌丝干重为指标, 评价不同的培养基、培养基初

始 pH、温度和光照等生态因子对芍药镰刀菌 DT-08C 菌丝生长的影响。结果显示, 芍药镰刀菌 DT-08C 在 PSA 培养基中菌落直径和菌丝干重显著高于其他培养基, 所以 PSA 培养基为芍药镰刀菌 DT-08C 菌丝生长的最适培养基; 最适生长温度为 30 °C; 适宜菌株生长的初始 pH 范围为 3.0–12.0, 最适初始 pH 7.0, 可见中性条件更适合芍药镰刀菌 DT-08C 菌株菌落的生长; 当光源为 24 h 光照处理时, 最适宜 DT-08C 菌株菌丝生长。产孢试验发现, 芍药镰刀菌 DT-08C 在燕麦片培养基中的产孢量最高, 其次为 PDA 培养基和 PSA 培养基; 最适产孢温度为 25–30 °C; 最适产孢初始 pH 值为 7.0; 最适产孢光源为 24 h 黑光灯和 24 h 紫光灯。

从生防菌的发现到制备成生防菌剂是一个长期的研究过程, 同时生防菌应用于大田生产还受到复杂环境条件的影响^[39]。本研究在控制环境下对分离菌株 DT-08C 的生物防治效果进行了评价, 但还需要进一步研究菌株作为生防菌剂的潜力, 包括生防剂型的研制和大田药效评价。

REFERENCES

- [1] 张小慧, 刘亚君, 刘文文, 黄寒, 胡庆娟, 唐澍, 李玉萍. 猪殃殃的研究进展[J]. 江西科技师范大学学报, 2016(6): 70-75.
ZHANG XH, LIU YJ, LIU WW, HUANG H, HU QJ, TANG S, LI YP. The research progress of *Galium aparine* L.[J]. Journal of Jiangxi Science & Technology Normal University, 2016(6): 70-75 (in Chinese).
- [2] 张田田, 马冲, 吴翠霞, 张勇, 孔繁华, 路兴涛. 不同环境因素对猪殃殃种子萌发及出苗的影响[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 102-106, 128.
ZHANG TT, MA C, WU CX, ZHANG Y, KONG FH, LU XT. Effects of different environmental factors on seed germination and seedling emergence of *Galium aparine* var. *tenerum*[J]. Plant Protection, 2017, 43(2): 102-106, 128 (in Chinese).
- [3] 吴翠霞, 张勇, 宋敏, 张田田, 马冲, 周超, 路兴涛. 17 种除草剂对小麦田猪殃殃的防除效果[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(2): 257-261.
WU CX, ZHANG Y, SONG M, ZHANG TT, MA C, ZHOU C, LU XT. Effect of 17 herbicides against *Galium aparina* L. in wheat field[J]. Journal of Triticeae Crops, 2016, 36(2): 257-261 (in Chinese).
- [4] 王红春, 肖慰祖, 娄远来, 孙钰晨, 许小龙. 江苏省不同地区猪殃殃种群对常用除草剂的敏感性差异[J]. 杂草学报, 2017, 35(3): 16-21.
WANG HC, XIAO WZ, LOU YL, SUN YC, XU XL. Differences in sensitivity to several herbicides among different geographical populations of *Galium aparine* in Jiangsu Province[J]. Journal of Weed Science, 2017, 35(3): 16-21 (in Chinese).
- [5] PEARSON KA, TAYLOR AFS, FUCHS RME, WOODWARD S. Characterisation and pathogenicity of *Fusarium* taxa isolated from ragwort (*Jacobaea vulgaris*) roots[J]. Fungal Ecology, 2016, 20: 186-192.
- [6] 陈世国, 强胜. 生物除草剂研究与开发的现状及未来的发展趋势[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 770-779.
CHEN SG, QIANG S. The status and future directions of bioherbicide study and development[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(5): 770-779 (in Chinese).
- [7] TÓTH T, SZILÁGYI A, KÖVICS G. Preliminary estimation of the efficacy of *Fusarium sporotrichioides* Sherb. as biological control agent against common milkweed (*Asclepias syriaca* L.)[J]. Acta Agraria Debreceniensis, 2018(74): 201-204.
- [8] PUNJA ZK. First report of *Fusarium proliferatum* causing crown and stem rot, and pith necrosis, in cannabis (*Cannabis sativa* L., marijuana) plants[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2021, 43(2): 236-255.
- [9] COLLINS, SARA BETH. Characterization of *Fusarium* species and *Alternaria alternata*, and their effects on switchgrass health and chemical components[D]. Knoxville: Master's Thesis of University of Tennessee, 2016.
- [10] MOTLAGH MRS. Study of *Fusarium equiseti*, as bicontrol agent of *Echinochloa oryzicola* in paddy fields[J]. Journal of Pure and Applied Microbiology, 2014, 8(2): 1259-1264.
- [11] NAZER KAKHAKI SH, MONTAZERI M, NASERI B. Biocontrol of broomrape using *Fusarium oxysporum* f. sp. *orthoceras* in tomato crops under field conditions[J]. Biocontrol Science and Technology, 2017, 27(12): 1435-1444.

- [12] MASI M, MEYER S, PESCIPELLI G, CIMMINO A, CLEMENT S, PEACOCK B, EVIDENTE A. Phytotoxic activity against *Bromus tectorum* for secondary metabolites of a seed-pathogenic *Fusarium* strain belonging to the *F. tricinctum* species complex[J]. Natural Product Research, 2017, 31(23): 2768-2777.
- [13] LI S, SHAO MW, LU YH, KONG LC, JIANG DH, ZHANG YL. Phytotoxic and antibacterial metabolites from *Fusarium proliferatum* ZS07 isolated from the gut of long-horned grasshoppers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(36): 8997-9001.
- [14] ANTEYI WO, KLAIBER I, RASCHE F. Diacetoxyscirpenol, a *Fusarium* exometabolite, prevents efficiently the incidence of the parasitic weed *Striga hermonthica*[J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1): 1-15.
- [15] 方中达. 植病研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- FANG ZD. Research Methods of Plant Diseases[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 1998 (in Chinese).
- [16] 黄琼. 柔枝莠竹(*Microstegium vimineum*)生防真菌的潜力评估和寄主范围测试[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2017.
- HUANG Q. Potential evaluation and host range test of biocontrol fungi on *Microstegium vimineum*[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [17] 李永龙, 程亮, 朱海霞, 郭青云. 出芽短梗霉菌菌株 PA-2 的除草活性及对作物的安全性[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(2): 232-238.
- LI YL, CHENG L, ZHU HX, GUO QY. Herbicidal activity of *Aureobasidium pullulans* PA-2 on weeds and its safety on crops[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2014, 30(2): 232-238 (in Chinese).
- [18] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- WEI JC. Handbook of Fungal Identification[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979 (in Chinese).
- [19] 王禹博. 链格孢菌 SC-018 对野慈姑的防除潜力及环境生物安全性评价研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2019.
- WANG YB. Study on the control potential of *Alternaria alternata* strain SC-018 against *Sagittaria trifolia* and environmental biosafety assessment[D]. Shenyang: Master's Thesis of Shenyang Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [20] 程亮. 生防菌株 GD-2 和 HZ-31 生长特性分析[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(22): 5408-5410, 5430.
- CHENG L. Growth characteristics of biological control strains GD-2 and HZ-31[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2014, 53(22): 5408-5410, 5430 (in Chinese).
- [21] 吴屿硕, 阎维巍, 张鑫楠, 葛永红, 贾晓辉. 梨立枯丝核菌果腐病菌生长条件及寄主范围测定[J]. 中国果树, 2022(7): 27-32.
- WU YS, YAN WW, ZHANG XN, GE YH, JIA XH. Growth conditions and host range of *Rhizoctonia solani* from pear fruit[J]. China Fruits, 2022(7): 27-32 (in Chinese).
- [22] SANDOVAL-CONTRERAS T, BETANCOURT-RODRÍGUEZ J, GARRIDO-SÁNCHEZ L, RAGAZZO-SÁNCHEZ JA, IÑIGUEZ-MORENO M, CALDERÓN-SANTOYO M. Effect of temperature on mycelial growth of *Alternaria alternata* and *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from papaya fruit[J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2021, 54(19-20): 1970-1988.
- [23] CHAUDHARY S, KUMAR M, SENGAR RS, CHAND P, MISHRA P, TOMAR A. Effect of nutrient status, temperature and PH on mycelial growth, sclerotial production and germination of *Rhizoctonia solani* isolated from paddy fields[J]. Progressive Agriculture, 2018, 18(1): 82.
- [24] 余艳芳, 杨光, 朱君德, 尹志刚, 周莉莉, 何世界. 不同药剂对麦田猪殃殃和婆婆纳的防除效果[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(5): 152-154, 185.
- YU YF, YANG G, ZHU JD, YIN ZG, ZHOU LL, HE SJ. Study on control effects of different chemicals against *Catchweed bedstraw* L. and *Veronica didyma* T. in wheat field[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2023, 51(5): 152-154, 185 (in Chinese).
- [25] 路兴涛, 吴翠霞, 张勇, 马冲, 张田田, 孙竹波, 孔繁华. 12 种除草剂对冬小麦田阔叶杂草的防除效果[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(3): 425-431.
- LU XT, WU CX, ZHANG Y, MA C, ZHANG TT, SUN ZB, KONG FH. Control effects of 12 herbicides on broadleaf weeds in winter wheat field[J]. Journal of Triticeae Crops, 2014, 34(3): 425-431 (in Chinese).
- [26] 付瑞霞, 王俊平, 董立尧. 防除稻麦连作小麦田主要杂草的高活性除草剂室内筛选[J]. 杂草学报, 2020, 38(1): 68-73.
- FU RX, WANG JP, DONG LY. Indoor screening of high-activity herbicides to control main weeds in wheat fields with rice-wheat rotated[J]. Journal of Weed Science, 2020, 38(1): 68-73 (in Chinese).
- [27] SINGH AK, PANDEY AK. Exploitation of fungal phytotoxin as natural herbicide for ecofriendly weed

- management: problems and prospects[J]. *International Journal of Plant and Environment*, 2020, 6(3): 211-214.
- [28] 谢安娜, 徐浩飞, 张志林, 魏婷, 余艳萍, 刘欣然, 史红安. 致病镰刀菌的研究进展[J]. *湖北工程学院学报*, 2020, 40(6): 37-41.
XIE AN, XU HF, ZHANG ZL, WEI T, SHE YP, LIU XR, SHI HA. Research development of *Fusarium*[J]. *Journal of Hubei Engineering University*, 2020, 40(6): 37-41 (in Chinese).
- [29] 刘慧迪, 黄继宁, 成志军, 田小卫. 作物镰刀菌枯萎病及其生物防治的研究进展[J]. *植物医学*, 2022, 1(5): 8-22.
LIU HD, HUANG JN, CHENG ZJ, TIAN XW. Research progress on crop *Fusarium* wilt disease and its biological control[J]. *Plant Health and Medicine*, 2022, 1(5): 8-22 (in Chinese).
- [30] TAYLOR A, BARNES A, JACKSON AC, CLARKSON JP. First report of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium redolens* causing wilting and yellowing of wild rocket (*Diptotaxis tenuifolia*) in the United Kingdom[J]. *Plant Disease*, 2019, 103(6): 1428.
- [31] MOURELOS CA, MALBRÁN I, BALATTI PA, GHIRINGHELLI PD, LORI GA. Gramineous and non-gramineous weed species as alternative hosts of *Fusarium graminearum*, causal agent of *Fusarium* head blight of wheat, in *Argentina*[J]. *Crop Protection*, 2014, 65: 100-104.
- [32] DONG F, XU JH, ZHANG X, WANG SF, XING YJ, MOKOENA MP, OLANIRAN AO, SHI JR. Gramineous weeds near paddy fields are alternative hosts for the *Fusarium graminearum* species complex that causes *Fusarium* head blight in rice[J]. *Plant Pathology*, 2020, 69(3): 433-441.
- [33] NGITTU YS. Identifikasi genus jamur *Fusarium* yang menginfeksi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) di danau tondano[J]. *Pharmacon*, 2014, 3(3):156-161.
- [34] 程亮, 郭青云. 燕麦镰刀菌 GD-2 毒素对野燕麦的除草活性研究[J]. *微生物学杂志*, 2016, 36(2): 67-73.
CHENG L, GUO QY. Herbicidal activity of toxin from *Fusarium avenaceum* GD-2 against wild oats (*Avena fatua* L.)[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 36(2): 67-73 (in Chinese).
- [35] AHMED NE, SUGIMOTO Y, BABIKER AGT, MOHAMED OE, MA YQ, INANAGA S, NAKAJIMA H. Effects of *Fusarium solani* isolates and metabolites on *Striga* germination[J]. *Weed Science*, 2001, 49(3): 354-358.
- [36] 王禹博, 纪明山, 谷祖敏, 张淑东, 张双, 杨宁, 王勇. 生物除草剂的开发、研究进展与未来发展思路[J]. *农药*, 2019, 58(2): 86-88, 98.
WANG YB, JI MS, GU ZM, ZHANG SD, ZHANG S, YANG N, WANG Y. Development, research progress and future development ideas of biological herbicides[J]. *Agrochemicals*, 2019, 58(2): 86-88, 98 (in Chinese).
- [37] 王桂清, 曾路, 马迪, 赵鹏. 我国近 10 年植物致病真菌生物学特性研究综述[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(19): 1-5.
WANG GQ, ZENG L, MA D, ZHAO P. Review on biological characteristics of plant pathogenic fungi in China in recent 10 years[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(19): 1-5 (in Chinese).
- [38] LI C, NAN Z, FEI L. Biological and physiological characteristics of *Neotyphodium gansuense* symbiotic with *Achnatherum inebrians*[J]. *Microbiological Research*, 2008, 163(4): 431-440.
- [39] 张怡然. 禾谷镰刀菌 FgNrp1 的生物学功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2022.
ZHANG YR. Study on biological function of *Fusarium graminearum* FgNrp1[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2022 (in Chinese).