



## 研究报告

## 塔宾曲霉 L-27 菌株的分离鉴定及其发酵液除草潜力

宋玉婕 杨从军\*

青岛农业大学植物医学学院 山东省农作物病虫害综合防控重点实验室 山东 青岛 266109

**摘要:**【背景】微生物源天然产物是新农药研究开发的热点之一。【目的】从土壤中分离筛选代谢产物具有除草潜力的真菌菌株。【方法】培养皿滤纸法测定分离菌株发酵液对植物幼苗生长的抑制作用及抑制作用稳定性,显微观察结合 rDNA ITS 序列分析鉴定菌株。【结果】在分离的 30 株土壤真菌中, L-27 菌株发酵液对小麦幼苗生长抑制最显著,对根、茎抑制率分别为 79.4%、67.3%。基于菌落形态、菌体显微观察和 rDNA ITS 基因序列分析,分离菌株 L-27 被鉴定为塔宾曲霉(*Aspergillus tubingensis*)。进一步测定发现, L-27 菌株发酵液完全抑制反枝苋、马齿苋、稗草的幼苗生长,对圆叶牵牛幼苗根、茎的抑制率分别为 100%、77.8%。L-27 菌株发酵液对小麦幼苗生长的抑制作用表现出良好的热稳定性、酸碱稳定性和紫外光照射稳定性。发酵液在 120 °C 加热 20 min,根、茎生长抑制率分别为 100%和 73.8%;将发酵液调至 pH 2.0–12.0 并保持 1 h,再调回初始 pH 值,对根、茎生长的抑制率均达 100%;发酵液经紫外光照射 5–240 min,抑制率分别为 100%和 84.3%–91.7%。【结论】分离的塔宾曲霉 L-27 菌株发酵液具有开发微生物源除草剂的潜力。

**关键词:** 塔宾曲霉 L-27, 发酵液, 除草潜力

## Isolation and identification of *Aspergillus tubingensis* L-27 strain and herbicidal potential of its fermentation broth

SONG Yujie YANG Congjun\*

Key Laboratory of Integrated Crop Pest Management of Shandong Province, College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China

**Abstract:** [Background] Natural production derived from microorganisms are one of the hot topics in the research and development of new pesticides. [Objective] To isolate and screen soil fungi producing potential herbicidal metabolites. [Methods] Petri dish filter paper culture method was adopted to determine the inhibition effect and stability of fermentation broth on the growth of plant seedlings, and the active strain was identified by microscopic observation and rDNA ITS sequence analysis. [Results] Of 30 fungal strains isolated from soil, the fermentation broth of isolated strain L-27 had significant inhibitory effect on wheat seedling, with inhibition rates 79.4% and 67.3% on root and stem length. Based on colony morphology, micromorphology and rDNA ITS gene sequences analysis, the isolated strain L-27 was identified as *Aspergillus tubingensis*. Further, strain L-27 fermentation broth completely inhibited seedling growth of

**Foundation item:** Key Research and Development Program of Shandong Province (2019GNC106150)

\*Corresponding author: E-mail: yangcj2006@163.com

Received: 14-01-2021; Accepted: 22-02-2021; Published online: 26-03-2021

基金项目: 山东省重点研发计划(2019GNC106150)

\*通信作者: E-mail: yangcj2006@163.com

收稿日期: 2021-01-14; 接受日期: 2021-02-22; 网络首发日期: 2021-03-26

*Amaranthus retroflexus*, *Portulaca oleracea*, *Echinochloa crusgalli* and *Ipomoea purpurea* except for 77.8% reduction of stem length on *I. purpurea*. The inhibitory effect of strain L-27 fermentation broth on wheat seedling growth had high stability to temperature, pH and UV light radiation, with inhibition rate 100% and 73.8% on root and stem length even heated at 120 °C for 20 min, 100% and 100% at pH 2.0–12.0 for 1 h, and 100% and 84.3%–91.7% under UV light radiation for 5 min to 240 min. **[Conclusion]** The fermentation broth characteristics of the isolated *A. tubingensis* L-27 indicated its great potential to develop herbicide.

**Keywords:** *Aspergillus tubingensis* L-27, fermentation broth, herbicidal potential

据推测, 2020 年全球除草剂市场可能达到 391.5 亿美元, 年复合增长率 6.25%<sup>[1]</sup>。人工合成除草剂品种多、成本低、防效高, 因而主导着全球市场。然而, 随着社会进步和公众健康意识的提高, 长期广泛使用合成除草剂的负面效应引起了世界各国的关注<sup>[2]</sup>。人工合成除草剂的大量使用, 特别是具有长效作用的除草剂, 带来环境污染、残留毒性、下茬作物损失甚至人、动物中毒, 引起消费者、农民、卫生工作者、环境管理者以及立法者的严重担忧<sup>[3-5]</sup>。100 多种合成除草剂已在全球 30 多个国家被禁止或取消注册<sup>[6]</sup>。另一方面, 对除草剂的过度依赖和长期大量单一使用, 导致杂草抗性发展、药效降低、用量和成本增加、污染加重。据最新统计, 全球已有 510 个抗性杂草生物型, 分属 262 种杂草(双子叶植物 152 种, 单子叶植物 110 种)<sup>[7]</sup>。杂草已对 26 个已知除草剂作用位点中的 23 个和 167 种除草剂演化出抗性<sup>[7]</sup>。抗性杂草已在 70 个国家的 93 种作物田中被报道<sup>[7]</sup>。可替代除草剂的缺乏导致交互抗性或多抗性(或两者兼有)是全球作物生产和食品安全面临的最大威胁之一<sup>[8]</sup>。因此, 开发毒理学和环境特性更安全、作用机制更新颖的新型除草剂, 特别是天然产物除草剂已迫在眉睫。利用微生物代谢物开发除草剂是一个重要的途径和方向, 天然产物具有结构新颖、残留低等特点, 还能揭示新的作用机制<sup>[9-10]</sup>。此外, 与开发一种新的合成除草剂产品需要约 10 年时间及成本约 2.5 亿美元相比, 利用天然产物开发新除草剂的方法具有方向明确、开发成本相对较低的优点<sup>[2-3]</sup>。

基于微生物代谢产物衍生的除草剂的潜在

优势, 本研究从土壤中分离对植物生长有良好抑制作用的真菌及其代谢产物, 初步评价其除草潜力。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试植物

小麦种子(济麦 22)购于青岛市城阳区种子站。

反枝苋 (*Amaranthus retroflexus*)、马齿苋 (*Portulaca oleracea*)、稗草 (*Echinochloa crusgalli*) 和圆叶牵牛 (*Ipomoea purpurea*) 种子, 于 2017 年采于青岛农业大学校园。

### 1.2 主要试剂和仪器及培养基

葡萄糖、琼脂, 国药集团化学试剂有限公司; *Taq*<sup>TM</sup> DNA 多聚酶, MBI 公司; dNTPs, 天根生化科技(北京)有限公司; DNA 抽提试剂盒、DNA 琼脂糖凝胶抽提试剂盒, 生工生物工程(上海)股份有限公司。

测序仪, Applied Biosystems 公司; 恒温振荡器, 上海一恒科学仪器有限公司; 人工气候箱, 宁波东南仪器有限公司。

真菌培养采用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; 真菌发酵采用马铃薯葡萄糖培养基 (Potato Dextrose Medium, PD) (g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0。

### 1.3 土壤真菌分离

土壤样品用无菌铲采于青岛农业大学校园不同植物根部, 保存于干净无菌的聚乙烯袋中。取土壤样品 1 g 加入含 99 mL 无菌水的三角瓶中, 充分振摇 5 min, 使土壤分散悬浮。土壤颗粒沉淀后, 将 100  $\mu$ L 上清液及其 5 个连续 10 倍比稀释液

分别涂于 PDA 平板。将平板置于 28 °C 黑暗条件下培养 4–7 d。挑取不同形态、颜色的菌落,在 PDA 平板上转接 2–3 次纯化。纯化真菌在 PDA 斜面上传代,4 °C 保存。

#### 1.4 具有除草潜力土壤真菌菌株的筛选

将纯化真菌分离菌株接种于 PDA 平板,在 28 °C 黑暗条件下培养 4–7 d,待菌落充分生长,在其边缘切取菌饼(直径 0.6 cm),接种于液体培养基中(100 mL PD/250 mL 三角瓶),于 28 °C、120 r/min 振荡培养 5 d。发酵液在 4 °C、10 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.22 µm 微孔滤膜过滤。发酵滤液用于评价其除草潜力。

以小麦种子为受体测定发酵滤液除草潜力。取 8 mL 发酵滤液加入底部铺有单层滤纸的无菌培养皿中(直径 9 cm),从催芽露白的种子中挑选籽粒饱满、大小、萌发程度整齐一致的小麦种子均匀摆放在滤纸上,保持腹沟向下。每个菌株发酵滤液设 3 个重复,每个培养皿 10 粒种子为 1 个重复。以加入 8 mL 无菌水作为对照。然后将培养皿用保鲜膜包覆,置于 28 °C 培养箱中培养 3 d,按下式计算幼苗生长抑制率:

根(茎)抑制率(%)=[对照根(茎)长-处理根(茎)长]/对照根(茎)长×100。

同样以反枝苋、马齿苋、稗草和圆叶牵牛种子为受体,测定最具除草潜力的分离菌株 L-27 其发酵液对幼苗生长的抑制作用。

#### 1.5 分离菌株 L-27 发酵液除草潜力稳定性测定

对筛选出的土壤真菌分离菌株 L-27 发酵液抑制植物幼苗生长作用的稳定性进行测定,包括对温度、酸碱和紫外线照射的稳定性。菌株 L-27 在 30 mL 的 PD/100 mL 锥形瓶中于 28 °C、170 r/min 发酵 5 d,按 1.4 中方法获得发酵滤液。

热稳定性测定:将发酵滤液分别加热至 60、80、100 和 120 °C 并保持 20 min。其中,120 °C 高温通过灭菌锅加压达到。然后测定各加热处理

后的发酵液对小麦幼苗生长的抑制作用。

酸碱稳定性测定:用 2 mol/L HCl 或 2 mol/L NaOH 溶液调节发酵滤液 pH 值分别至 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0,并在室温维持 1 h,再将 pH 回调至初始值,然后测定各处理的发酵液对小麦幼苗生长的抑制作用。

紫外光照射稳定性测定:将发酵滤液加入无菌培养皿,在 300 lx 紫外灯下分别照射 5 min、15 min、30 min、1 h、2 h、4 h,然后测定各处理对小麦幼苗生长的抑制作用。

#### 1.6 分离菌株 L-27 的鉴定

取在 PDA 平板上培养 4 d 的 L-27 菌落的成熟菌丝和孢子,制成显微玻片,显微镜下观察菌丝和孢子。

用 DNA 抽提试剂盒提取菌株 L-27 基因组 DNA,采用 rDNA ITS 序列扩增引物 ITS1 (5'-TC CGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCC GCTTATTGATATGC-3')[11]进行 PCR。PCR 反应体系(25 µL):DNA (约 50 ng/µL) 0.5 µL, 10×*Pfu* 缓冲液(Mg<sup>2+</sup>) 2.5 µL,上、下游引物(10 µmol/L)各 1 µL, dNTPs (2.5 mmol/L) 1 µL, *Taq*<sup>TM</sup> DNA 多聚酶(5 U/µL) 0.2 µL, ddH<sub>2</sub>O 补足至 25 µL。PCR 反应条件:94 °C 4 min; 94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 60 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,并用 DNA 琼脂糖凝胶抽提试剂盒纯化。使用 ABI 3730XL 基因测序仪对纯化片段进行测序。利用 NCBI 上的 BLAST 程序进行 rDNA ITS 基因序列相似性鉴定,用 MEGA 6.0 通过 Kimura 2 参数距离模型和邻域连接法构建系统进化树[12]。

#### 1.7 数据分析

数据采用 IBM SPSS 统计软件进行单因素方差分析,方差齐性采用列文氏检验。采用邓肯氏法分析差异显著性( $P < 0.05$ )。用 Microsoft Excel 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤真菌分离及其除草潜力

共获得 30 株不同形态或颜色的真菌, 分别标记为 L-1-L-30。所有菌株发酵液对小麦幼苗根系生长均有抑制作用(表 1)。除 L-3 和 L-12 菌株外, 其余菌株发酵液的抑菌率均大于 50%。菌株 L-1、L-13、L-15、L-20、L-27 和 L-28 发酵液对根长抑制率最高, 均在 70%以上。菌株 L-3 发酵液的抑制率最低, 为  $35.4\% \pm 2.2\%$ 。各分离菌株的发酵液对小麦幼苗茎长抑制作用弱于对根长的抑制作用(表 1), 其中, 14 个分离菌株发酵液的抑制率低于 50%, 13 株在 50%–60%之间, 3 株超过 60%。菌株 L-27 发酵液对小麦幼苗茎长的抑制率最高, 为  $67.3\% \pm 4.8\%$ ; 菌株 L-12 发酵液的抑制率最低, 为  $29.7\% \pm 2.0\%$ 。

L-27 菌株发酵液对 4 种杂草均有强烈抑制作用(图 1), 反枝苋、马齿苋和稗草幼苗生长被完全抑制, 圆叶牵牛仅幼苗的茎较弱生长, 其抑制率也达 77.8%。结果表明分离菌株 L-27 的发酵代谢产物具有良好的除草潜力。

### 2.2 L-27 菌株发酵液抑制幼苗生长作用稳定性

L-27 菌株发酵液对小麦幼苗生长抑制作用具有较强热稳定性(图 2)。不同温度处理间对小麦幼苗茎长抑制率存在显著差异, 未加热处理发酵液对茎长的抑制率( $100\% \pm 0.0\%$ )显著高于在 60、80、100 和 120 °C 加热 20 min 的抑制率(分别为  $89.0\% \pm 3.2\%$ 、 $85.3\% \pm 4.3\%$ 、 $74.1\% \pm 4.9\%$  和  $73.8\% \pm 3.5\%$ )。高温处理显著降低了发酵液对茎长的抑制率, 但抑制率仍在 70%以上。然而各温度处理发酵液和对照完全抑制小麦幼苗根生长。

L-27 发酵液的除草活性酸碱稳定极强。发酵液分别调至 pH 2.0–12.0 并保持 1 h, 再调回到初始 pH 值后, 对小麦幼苗根(茎)长的抑制率仍保持 100%, 与原发酵液完全相同(图 3)。

L-27 发酵液经紫外光照射(300 lx)后其对小麦生长的抑制作用较为稳定(图 4)。紫外光照射 5–240 min, 对小麦幼苗茎长和根系生长的抑制率分别为 84.3%–91.7%和 100%。

表 1 30 株土壤真菌菌株发酵液对小麦幼苗生长的抑制作用(抑制率, %)

Table 1 Inhibition effect of fermentation broth of 30 strains of soil fungi on wheat seedling growth (inhibitory rate (%))

| 菌株 Strain | 根长 Root length | 茎长 Stem length |
|-----------|----------------|----------------|
| L-1       | 73.4±4.7abc    | 50.2±3.7efg    |
| L-2       | 51.9±3.9lm     | 31.9±2.1k      |
| L-3       | 35.4±2.2n      | 39.1±1.9j      |
| L-4       | 53.2±2.0klm    | 42.7±1.0hij    |
| L-5       | 69.4±4.1bcdef  | 52.1±2.2defg   |
| L-6       | 59.6±3.3ijk    | 41.4±3.2ij     |
| L-7       | 70.5±3.6bcde   | 53.5±3.4de     |
| L-8       | 57.1±4.5jkl    | 39.5±1.7j      |
| L-9       | 62.7±2.8fghi   | 42.1±1.3hij    |
| L-10      | 59.9±3.2ij     | 40.1±1.9j      |
| L-11      | 56.9±2.4jkl    | 40.8±2.9ij     |
| L-12      | 48.3±3.4m      | 29.7±2.0k      |
| L-13      | 75.6±3.6ab     | 59.4±1.9bc     |
| L-14      | 62.6±4.3ghij   | 43.8±2.8hij    |
| L-15      | 75.3±3.6ab     | 62.1±2.9ab     |
| L-16      | 53.2±2.8klm    | 28.5±1.8k      |
| L-17      | 68.3±2.9cdefgh | 53.0±2.3def    |
| L-18      | 64.2±3.3efghi  | 52.6±2.7def    |
| L-19      | 56.6±4.3jkl    | 51.7±3.1efg    |
| L-20      | 78.0±4.3a      | 66.4±3.6a      |
| L-21      | 65.9±2.2defghi | 50.6±4.8efg    |
| L-22      | 62.0±3.1hij    | 47.5±2.8fgh    |
| L-23      | 59.9±2.3ij     | 41.4±3.1ij     |
| L-24      | 70.1±2.2bcde   | 53.3±3.4de     |
| L-25      | 69.2±2.8bcdefg | 59.2±5.1bc     |
| L-26      | 65.3±3.7defgh  | 57.5±4.3bcd    |
| L-27      | 79.4±3.6a      | 67.3±4.8a      |
| L-28      | 71.5±3.8bcd    | 51.7±2.9efg    |
| L-29      | 68.4±4.6cdefgh | 54.9±3.6cde    |
| L-30      | 66.3±5.0defghi | 46.5±2.6ghi    |

注: 抑制率为平均值±标准误; 小写字母表示差异显著性 ( $P < 0.05$ )

Note: Inhibitory rate was equal to mean ± SE; Lower case letters represent significant differences ( $P < 0.05$ )



图 1 菌株 L-27 发酵液对多种杂草幼苗生长的抑制作用  
Figure 1 Inhibition effect of strain L-27 fermentation broth on weed seedling growth

注: A: 反枝苋; B: 马齿苋; C: 稗草; D: 圆叶牵牛。1: 无菌水; 2: 发酵液

Note: A: *Amaranthus retroflexus*; B: *Portulaca oleracea*; C: *Echinochloa crusgalli*; D: *Ipomoea purpurea*. 1: Sterile water; 2: Fermentation broth

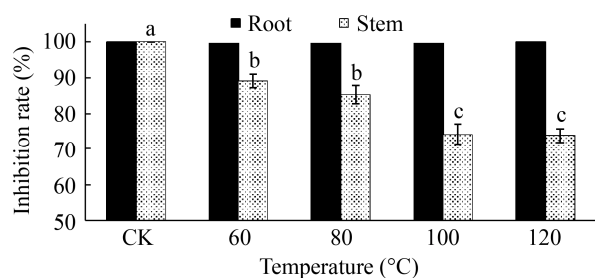


图 2 经不同温度处理的菌株 L-27 发酵液对小麦幼苗生长的抑制作用

Figure 2 Inhibitory effect of strain L-27 fermentation broth treated at different temperatures on wheat seedling growth

注: CK 为未热处理的 L-27 发酵液。字母表示差异显著性 ( $P < 0.05$ )

Note: CK: L-27 fermentation filtrate not heated. Lower case letters represent significant differences ( $P < 0.05$ )

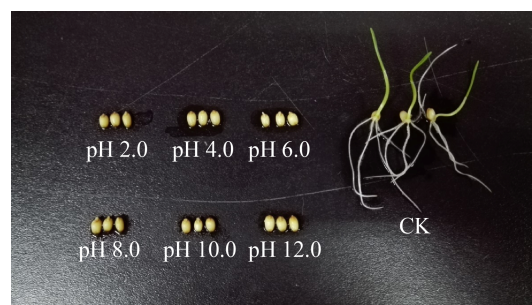


图 3 菌株 L-27 发酵液对小麦幼苗生长抑制的酸碱稳定性

Figure 3 Acid and alkali stability of L-27 fermentation broth inhibiting wheat seedling growth

注: CK: 无菌水处理; pH 值代表 L-27 发酵液被调整到该值并保持 1 h, 然后调回初始 pH 值

Note: CK: Sterile water treatment; The pH value represented the adjusted value of the fermentation broth, which was maintained for 1 h and then adjusted back to original pH value

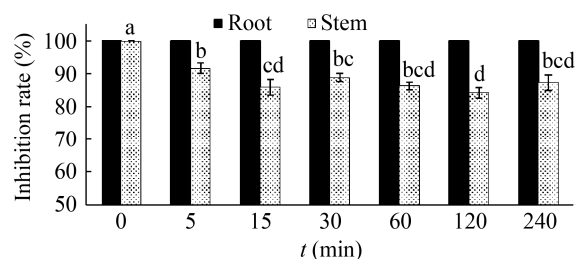


图 4 紫外光照射处理菌株 L-27 发酵液对小麦幼苗生长抑制的影响

Figure 4 UV-irradiation stability of L-27 fermentation broth inhibiting wheat seedling growth

综上, L-27 菌株发酵液抑制幼苗生长作用对环境因素(包括温度、pH 和紫外光照射)表现出良好稳定性, 这有利于今后在田间的开发和应用。

### 2.3 菌株 L-27 的鉴定

菌株 L-27 在 PDA 平板上生长迅速, 初期菌丝呈稀疏的白色, 成熟菌落呈黑色颗粒状, 在平板上分布不均匀。分生孢子梗发生于基质, 孢梗茎 (750–1 400)  $\mu\text{m} \times (7-10) \mu\text{m}$ , 壁平滑, 近无色。分生孢子球形, 深褐色, 光滑, 直径 4.5–5.0  $\mu\text{m}$ , 数量众多。顶囊褐色, 近球形, 50–70  $\mu\text{m}$  (图 5)。通过 rDNA ITS 基因序列构建系统进化树, 发现 L-27 菌株(545 bp)属于塔宾曲霉(图 6)。根据形



态、培养特性和 rDNA ITS 基因序列, 分离菌株 L-27 被鉴定并命名为塔宾曲霉 L-27 (*Aspergillus tubingensis* L-27)。*A. tubingensis* L-27 已保存在中国普通微生物菌种保藏管理中心, 专利保存号为 CGMCC 18551, 已申请国家专利, 专利受理号为 201911166005.0, 目前已进入实质审查阶段。

3 讨论与结论

天然产物具有无与伦比的结构多样性, 以微生物代谢产物开发除草剂具有资源丰富、环境友

好、作用机制新颖等特殊优势<sup>[13-14]</sup>。茴香霉素是第一个用作商业除草剂开发模板的微生物代谢产物, 由丰加链霉菌(*Streptomyces toyocaensis*)产生, 强烈抑制稗草(*E. crusgalli*)和马唐(*Digitaria sanguinalis*)。模拟茴香霉素结构开发出 2 个商品化稻田除草剂百草酮和 NK049 (4-甲氧基-3-3'-二甲基苯酮)。双丙氨膦由吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)或绿色链球菌(*S. viridochromogenes*)发酵而得, 直接开发成商品除草剂, 通过抑制谷

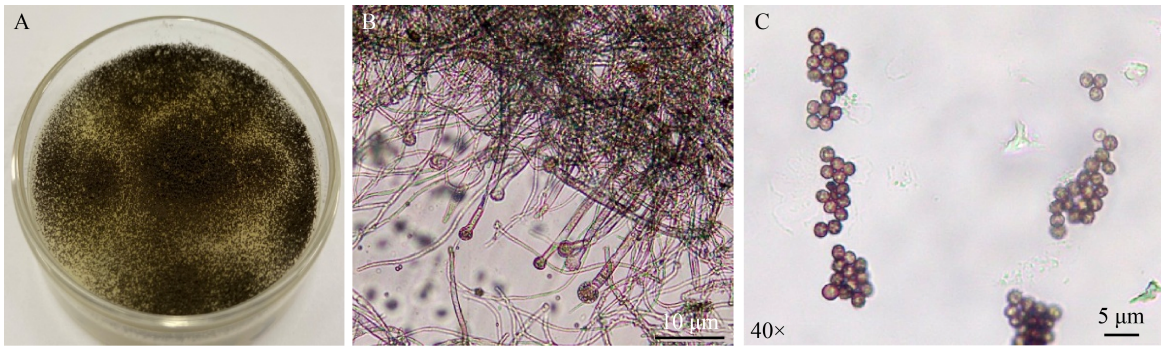


图 5 分离菌株 L-27 菌落特性及其菌丝和孢子显微观察  
Figure 5 Colony features and microscopic morphology of the mycelia and spores of L-27 strain  
注: A: 菌落; B: 菌丝和顶囊; C: 孢子  
Note: A: Colony; B: Mycelia and apical sac; C: Spores

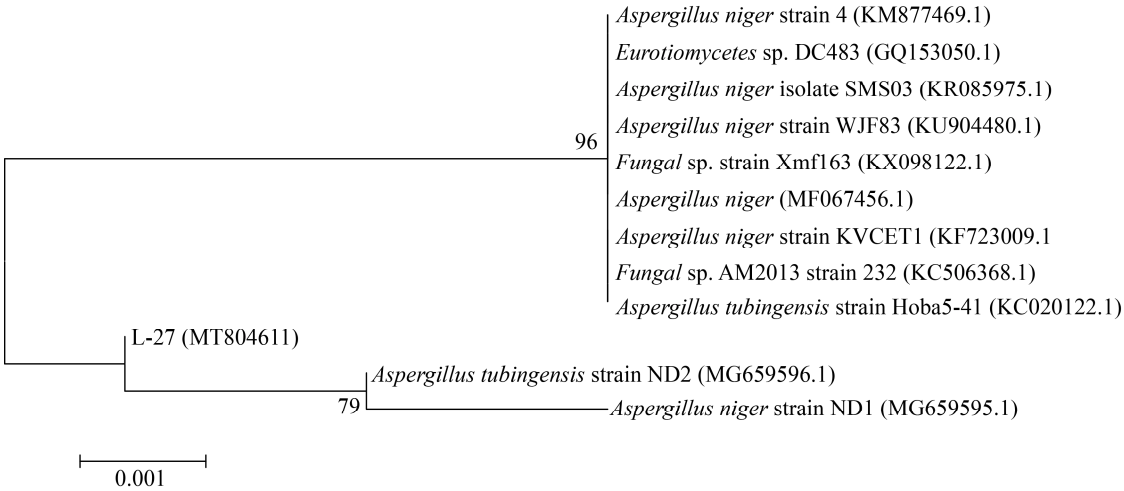


图 6 菌株 L-27 基于 rDNA ITS 基因及其近邻序列的系统发育关系  
Figure 6 Phylogenetic relationships based on rDNA ITS gene sequences from isolate L-27 and near neighbor  
注: 括号内数值为菌株在 GenBank 中的登录号; 分支点上数字为重复 1 000 次的自展值; 标尺 0.001 为核苷酸替换率  
Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; Numbers at the nodes indicate the level of bootstrap values based on 1 000 replications; The scale bar indicates 0.001 substitutions per nucleotide position

氨酰胺合成酶和光合磷酸化杀灭杂草<sup>[15]</sup>。草铵膦以双丙氨膦为模板合成,两者均是比草甘膦作用更快的非选择性除草剂,对哺乳动物毒性低,可被土壤微生物快速降解<sup>[16]</sup>。截至目前,相当数量的微生物代谢物被研究并显示出良好的开发潜力,如 SPRI-70014、吡啶毒素、Toyokamycin、Isoflanvenes、Genistins、除莠毒素(Herbimycin)、Alteicin、Tagetoxin、Bipolaraxin 和串珠镰刀菌素(Moniliformin)等<sup>[17]</sup>。

源于微生物的活性代谢物中,真菌产生的活性化合物最丰富,已发现超 7 万种化合物<sup>[6]</sup>,但是目前市场上尚无基于真菌代谢产物的产品<sup>[17]</sup>。造成这种差距的原因包括生产障碍、配方工艺、生态适应性、除草效果持续时间、注册手续昂贵耗时等<sup>[18]</sup>。本研究共分离到 30 株土壤真菌,各发酵液对小麦幼苗生长均有一定抑制作用;其中 L-27 菌株发酵液对小麦幼苗生长的抑制作用最显著,对根长和茎长的抑制率分别为 79.4%和 67.3%。小麦虽不是杂草,但其具有种子萌发率高、易获得、种质纯正等优点,广泛用于除草剂生物活性测定中<sup>[19]</sup>。当然,以小麦为供试植物进行除草活性追踪,得到的 L-27 菌株代谢产物用于小麦田杂草防除可能存在风险。但配制质量分数为 0.5%、1.0%、1.5%和 2.0%的 L-27 菌株孢子悬浮液叶面喷施或土壤灌施盆栽小麦,未对小麦生长产生影响。从黄河三角洲盐碱化菜园根际土壤筛选到一株解磷真菌塔宾曲霉 CT1,其对盐碱地小麦幼苗生长有一定的促进作用,但与同为塔宾曲霉的 L-27 菌株代谢产物的作用机制不同<sup>[20]</sup>。进一步测定发现,L-27 菌株发酵液也强烈抑制反枝苋、马齿苋、稗草和圆叶牵牛幼苗生长;同时,L-27 菌株发酵液除草作用对温度、酸碱和紫外光照射等环境影响因子稳定性好,表明分离到的 L-27 菌株发酵代谢物具有开发除草剂的潜力。

通过菌落形态、显微观察、分子和系统发育分析,分离菌株 L-27 被鉴定并命名为塔宾曲霉 L-27。

近年来,关于塔宾曲霉生物活性的报道越来越多。塔宾曲霉能够显著降解聚氨酯(Polyurethane, PU),为用塔宾曲霉解决 PU 污染困境提供了新的思路<sup>[21]</sup>。塔宾曲霉 NKBP-55 可以产生高滴度的纤维素酶、甘露聚糖酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶,可有效降解甘蔗渣和稻草,释放木糖、葡萄糖和纤维二糖<sup>[22]</sup>。2 种抗氧化活性化合物 Aurasperone A 和 Aurasperone B 从源于海洋的塔宾曲霉 LWG-42 中分离获得,它们清除 DPPH 自由基的  $EC_{50}$  值分别为 0.18 mg/mL 和 0.11 mg/mL,为深入开发 Aurasperone A 和 Aurasperone B 在制药、化妆品、食品等行业中的应用提供了资源<sup>[23]</sup>。解磷真菌塔宾曲霉 CT1 在接入盐碱地 15 d 后,促进小麦幼苗生长,茎长增加了 16.24%,茎鲜重增加了 12.35%,根长增加了 21.6%,解磷菌 CT1 可作为提高盐碱地作物产量的新型解磷生物菌肥利用<sup>[20]</sup>。已有文献表明,塔宾曲霉代谢产物具有广泛的生物活性,但其除草作用尚未见报道。本研究首次报道塔宾曲霉发酵液具有优异除草潜力,分离菌株 L-27 值得进一步研究,有望分析和明确其代谢产物中的有效成分,为直接开发利用或仿生合成提供了菌株资源和试验基础。

## REFERENCES

- [1] Ding JJ, Wang ZJ. Development of global herbicide market[J]. Journal of Seed Industry Guide, 2018(3): 20-21 (in Chinese)  
丁俊杰,王政杰. 全球除草剂市场的发展[J]. 种业导刊, 2018(3): 20-21
- [2] Czaja K, Góralczyk K, Struciński P, Hernik A, Korcz W, Minorczyk M, Łyczewska M, Ludwicki JK. Biopesticides: towards increased consumer safety in the European Union[J]. Pest Management Science, 2015, 71(1): 3-6
- [3] Green JM. Current state of herbicides in herbicide-resistant crops[J]. Pest Management Science, 2014, 70(9): 1351-1357
- [4] Kim KH, Kabir E, Jahan SA. Exposure to pesticides and the associated human health effects[J]. Science of the Total Environment, 2017, 575: 525-535
- [5] Mostafalou S, Abdollahi M. Pesticides: an update of human exposure and toxicity[J]. Archives of Toxicology, 2017, 91(2): 549-599
- [6] 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)
- 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
- [7] Heap I. The international survey of herbicide resistant weeds[EB/OL]. 2019-12-1. www.weedscience.org
- [8] Liu XY, Xiang SH, Zong T, Ma GL, Wu LM, Liu KL, Zhou XG, Bai LY. Herbicide resistance in China: a quantitative review[J]. Weed Science, 2019, 67(6): 605-612
- [9] Dayan FE, Owens DK, Duke SO. Rationale for a natural products approach to herbicide discovery[J]. Pest Management Science, 2012, 68(4): 519-528
- [10] Gerwick BC, Sparks TC. Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future[J]. Pest Management Science, 2014, 70(8): 1169-1185
- [11] Guo PH, Liu XL, Cui YP, Liao K. The value of universal fungal primers *Its1* and *Its4* in the clinical identification of filamentous fungi[J]. Chinese Journal of Microecology, 2013, 25(8): 922-924 (in Chinese)
- 郭鹏豪, 刘秀丽, 崔颖鹏, 廖康. 真菌通用引物 *Its1* 和 *Its4* 在丝状真菌鉴定中的价值评价[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(8): 922-924
- [12] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4: 406-425
- [13] Harvey AL. Natural products as a screening resource[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2007, 11(5): 480-484
- [14] Duke SO, Dayan FE. Clues to new herbicide mechanisms of action from natural sources[A]//ACS Symposium Series[M]. Washington, DC: American Chemical Society, 2013: 203-215
- [15] Tachibana K, Zhao J. Herbicidal efficacy and mechanism of bialaphos[J]. Translated Collection of Pesticide, 1983(1): 62 (in Chinese)
- Tachibana K, 赵嘉. 双丙氨膦的除草药效和机理[J]. 农药译丛, 1983(1): 62
- [16] Copping LG, Duke SO. Natural products that have been used commercially as crop protection agents[J]. Pest Management Science, 2007, 63(6): 524-554
- [17] Xu WP, Tao LM. Progress on the study of herbicides sourced from microbiological metabolites[J]. Modern Agrochemicals, 2011, 10(4): 1-8,19 (in Chinese)
- 徐文平, 陶黎明. 以微生物代谢物进行除草剂开发的研究进展[J]. 现代农药, 2011, 10(4): 1-8,19
- [18] Triolet M, Guillemin JP, Andre O, Steinberg C. Fungal-based bioherbicides for weed control: a myth or a reality?[J]. Weed Research, 2020, 60(1): 60-77
- [19] Ren LY. Experimental Principles and Methods of Pesticide Science[M]. Beijing: Science Press, 2018: 46 (in Chinese)
- 任立云. 农药学实验原理与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2018: 46
- [20] Li XP, Xie QJ, Fan YH. Phosphate-solubilizing ability of *Aspergillus tubingensis* and Its effects on growth of wheat in seedling stage[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2017, 37(1): 93-96 (in Chinese)
- 李学平, 谢文军, 范延辉. 盐碱地塔宾曲霉菌的解磷能力及其对小麦生长的影响[J]. 水土保持通报, 2017, 37(1): 93-96
- [21] Khan S, Nadir S, Shah ZU, Shah AA, Karunarathna SC, Xu JC, Khan A, Munir S, Hasan F. Biodegradation of polyester polyurethane by *Aspergillus tubingensis*[J]. Environmental Pollution, 2017, 225: 469-480
- [22] Prajapati BP, Kumar Suryawanshi R, Agrawal S, Ghosh M, Kango N. Characterization of cellulase from *Aspergillus tubingensis* NKBP-55 for generation of fermentable sugars from agricultural residues[J]. Bioresource Technology, 2018, 250: 733-740
- [23] Guo L, Wang C, Guo JC, Zheng HW. Identification of marine-derived *Aspergillus tubingensis* LWG-42 and isolation of its antioxidant active compounds[J]. Journal of Microbiology, 2017, 37(6): 30-35 (in Chinese)
- 郭雷, 王聪, 郭家才, 郑洪伟. 海洋来源塔宾曲霉 LWG-42 菌株的鉴定及其抗氧化活性化合物的分离[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(6): 30-35