

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.180903

陈杰, 马永清, 郭振国, 薛泉宏. 灰黄青霉对瓜列当的防效及对番茄根区土壤微生物的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27(5): 766–773

CHEN J, MA Y Q, GUO Z G, XUE Q H. Effect of *Penicillium griseofulvum* on control of *Orobanche aegyptiaca* and microorganisms in rhizosphere soils of tomato[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2019, 27(5): 766–773

灰黄青霉对瓜列当的防效及对番茄根区 土壤微生物的影响^{*}

陈 杰^{1,2}, 马永清^{3***}, 郭振国⁴, 薛泉宏¹

(1. 西北农林科技大学资源环境学院 杨凌 712100; 2. 山西农业大学农学院 太谷 030801; 3. 中国科学院水利部水土保持研究所黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室 杨凌 712100; 4. 西北农林科技大学林学院 杨凌 712100)

摘要: 根寄生杂草瓜列当(*Orobanche aegyptiaca*)严重危害番茄(*Solanum lycopersicum*)等多种经济作物的产量和品质。如何有效防除仍是当今瓜列当研究重点之一。真菌是列当的生防因子之一, 但目前对农作物无致病性的列当生防真菌的研究尚少。本研究通过培养皿试验研究1株灰黄青霉(*Penicillium griseofulvum*, CF3)的无细胞发酵滤液对瓜列当种子萌发和发芽管生长的影响, 通过盆栽试验研究CF3粉状制剂对瓜列当的防除效果及对寄主番茄生长和根区土壤微生物的影响。结果表明: 1)培养皿试验中, CF3发酵液抑制了瓜列当种子萌发和发芽管生长。其中, 在放有瓜列当种子与番茄幼苗的培养皿中, 加入CF3发酵液后培养6 d, 瓜列当种子的萌发均被完全抑制; 添加CF3发酵液与霍格兰德营养液体积比为1:2、1:4、1:6和1:8的混合液培养8 d后, 瓜列当种子的萌发率与对照相比分别减少80.26%、70.26%、68.10%和47.51%。CF3发酵液原液、10倍稀释液和100倍稀释液处理后使瓜列当发芽管长度与对照相比分别缩短100.00%、68.84%和19.24%。2)盆栽试验中, CF3菌剂抑制了瓜列当的出土和单株瓜列当的生长, 并使番茄增产。施加1.0 g·kg⁻¹CF3菌剂130 d后, 瓜列当的出土数量、出土率和单株瓜列当干重分别降低76.19%、85.30%和28.48%, 番茄果实鲜重增加51.57%。此外, 灰黄青霉菌剂还调整了番茄根区土壤的微生物区系结构, 使施加菌剂130 d后番茄根区土壤中除接入CF3外真菌数量与对照相比降低75.60%, 细菌与真菌的数量之比增加117.57%。平均来看, CF3使番茄根区土壤中除CF3外真菌数量降低42.81%, 放线菌总数增加84.15%。本研究表明, 灰黄青霉CF3具有防除番茄上寄生瓜列当的能力, 适宜作为瓜列当的生防真菌。

关键词: 瓜列当; 灰黄青霉; 真菌; 生物防治; 土壤微生物

中图分类号: Q939.96 文献标识码: A 文章编号: 2096-6237(2019)05-0766-08

Effect of *Penicillium griseofulvum* on control of *Orobanche aegyptiaca* and microorganisms in rhizosphere soils of tomato^{*}

CHEN Jie^{1,2}, MA Yongqing^{3***}, GUO Zhenguo⁴, XUE Quanhong¹

(1. College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 3. The State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming, Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling 712100, China; 4. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

* 新疆生产建设兵团农业与社会发展领域科技计划项目(2016AC007)资助

** 通信作者: 马永清, 主要研究方向为寄生植物与植物化感作用。E-mail: mayongqing@ms.iswc.ac.cn

陈杰, 主要研究方向为土壤微生物。E-mail: chenjie03306@163.com

收稿日期: 2018-10-10 接受日期: 2018-12-20

* This study was supported by the Science and Technology Plan for the Field of Agriculture and Social Development by the Xinjiang Production and Construction Corps (2016AC007).

** Corresponding author, E-mail: mayongqing@ms.iswc.ac.cn
Received Oct. 10, 2018; accepted Dec. 20, 2018

Abstract: Root parasitic weed *Orobanche aegyptiaca* adversely affects yield and quality of tomato (*Solanum lycopersicum*). The means of effective control is still the focus in *O. aegyptiaca* research. Fungus is one of the biocontrol agents of *Orobanche* spp.. However, few studies have been done on the use of non-pathogenic fungi to control *Orobanche* spp. weed. In this study, the effects of cell-free culture filtrate of *Penicillium griseofulvum*, a non-pathogenic fungus strain of *O. aegyptiaca*, on *O. aegyptiaca* seed germination and germ tube growth were investigated in a petri-dish experiment. In addition, a pot experiment was conducted to explore the effect of powdered *P. griseofulvum* inoculum on weedy *O. aegyptiaca* control. The effects of *P. griseofulvum* inoculum on the growth of host tomato plants and the change in microflora in rhizosphere soils of tomato plants were also investigated. Results showed that: 1) in the petri-dish experiment, cell-free culture filtrate of *P. griseofulvum* significantly inhibited both *O. aegyptiaca* seed germination and germ tube growth. When *O. aegyptiaca* seeds and tomato seedlings were co-cultured for 6 days, *O. aegyptiaca* seed germination was completely inhibited (100.0%) in treatments with *P. griseofulvum* cell-free culture filtrate. After co-culturing for 6 days, *O. aegyptiaca* seed germination rates reduced by 80.26%, 70.26%, 68.10% and 47.51%, respectively in treatments with volume ratios of *P. griseofulvum* cell-free culture filtrate and Hogland nutrient solution ratios of 1 : 2, 1 : 4, 1 : 6 and 1 : 8. The lengths of *O. aegyptiaca* germ tubes significantly reduced by 100.00%, 68.84% and 19.24%, respectively when treated by undiluted, 10-fold diluted and 100-fold diluted *P. griseofulvum* cell-free culture filtrate. 2) In the pot experiment, *P. griseofulvum* inoculum inhibited the emergence of *O. aegyptiaca* tubercles and the growth of individual *O. aegyptiaca* tubercle, but simultaneously increased tomato fruit yield. The number of epigeal *O. aegyptiaca* tubercles, epigeal rate of *O. aegyptiaca* tubercles and dry weight of individual *O. aegyptiaca* tubercles all significantly reduced after the application of powdered *P. griseofulvum* inoculum at 1.0 g·kg⁻¹ for 130 days respectively by 76.19%, 85.30% and 28.48% than the control. After the application of *P. griseofulvum* inoculum for 130 days, tomato fruit yield was 346.8 g per plant (51.57%) more than the control (228.8 g). In addition, *P. griseofulvum* also adjusted microflora structure in rhizosphere soils of tomato plants. The application of *P. griseofulvum* inoculum reduced fungi population (excluding CF3) and significantly increased population ratio of bacteria to fungi in rhizosphere soils of tomato plants by 75.60% and 117.57%, respectively, compared with the control. On average, application of *P. griseofulvum* inoculant reduced fungi population (excluding *P. griseofulvum*) and increased actinomycetes population in rhizosphere soils of tomato plants respectively by 42.81% and 84.15% over the control. In conclusion, *P. griseofulvum* had the ability to control *O. aegyptiaca* infection of tomato plant with fungus as suitable biological agent to control *O. aegyptiaca*.

Keywords: *Orobanche aegyptiaca*; *Penicillium griseofulvum*; Fungus; Biocontrol; Soil microorganism

列当(*Orobanche* spp.)完全靠从寄主汲取水分和营养物质来维持自身生长,已经成为严重影响农业生产的杂草。瓜列当(*O. aegyptiaca*)广泛分布在地中海地区、非洲、欧洲和亚洲等区域,可寄生在茄科(Solanaceae)、葫芦科(Cucurbitaceae)、豆科(Leguminosae)、伞形科(Umbelliferae)和菊科(Compositae)等多种作物上,对农业生产造成严重危害^[1-2]。仅在我国新疆,受瓜列当危害的加工番茄(*Solanum lycopersicum*)面积就高达7 000 hm²,造成产量损失可达80%^[3]。

有效防除列当仍是当今农业生产上的难题,列当生防微生物日益受到关注。真菌是常见的生物防治微生物。目前,列当生防真菌的研究多集中在列当病原菌尤其是镰刀菌(*Fusarium* spp.)上^[4]。向日葵列当(*O. cumana*)植株上接种尖孢镰刀菌(*F. oxysporum* f. sp. *orthoceras*)的分生孢子培养液后,其死亡率可高达85%^[5]。尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)Foxy 和 Foxy 的孢子悬浮液也可显著降低锯齿列当(*O. crenata*)和分枝列当(*O. ramose*)的萌发率及寄生率^[6]。现有列当致病真菌也可能是农作物的病原菌,如轮状镰刀菌(*F. verticillioides*)可使多种列当和农作物发病^[7-8]。因此,利用列当病原真

菌防除列当存在使寄主作物或下茬作物致病的风险。寻找对农作物无致病性的列当生防真菌是解决列当危害的可行途径之一。目前,已报道对农作物无致病性的列当生防真菌主要为丛枝菌根真菌^[9-10]和疣孢漆斑霉(*Myrothecium verrucaria*)^[11]等少数真菌。丛枝菌根真菌由于无法单独培养而限制了该类真菌在生产中的应用,疣孢漆斑霉的研究目前仅局限于孢子悬液上^[11]。

灰黄青霉(*Penicillium griseofulvum*)CF3为1株对多种作物病害病原菌有拮抗作用的生防真菌^[8-9]。前期研究表明,灰黄青霉无细胞发酵滤液具有抑制瓜列当种子萌发的功能^[10],但尚无该真菌用于瓜列当防除的系统研究。本研究通过瓜列当种子与番茄幼苗培养皿内共培养试验和培养皿内种子萌发试验,研究灰黄青霉CF3对瓜列当种子萌发和发芽管生长的影响,并通过盆栽试验研究在未灭菌土壤条件下灰黄青霉CF3活孢子制剂对番茄上寄生瓜列当的实际防除效果及对寄主番茄生长和番茄根区土壤微生物的作用。本研究可为番茄根寄生瓜列当的真菌防除提供新思路及有应用价值的新菌株。

1 材料与方法

1.1 微生物和植物材料

生防真菌: 灰黄青霉 CF3 由西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室提供, 分离自陕西健康草莓根区土壤中^[12]。

瓜列当: 瓜列当种子采自 2011 年新疆焉耆县受瓜列当寄生的番茄田中。

番茄: 本研究所用番茄品种为‘白果强丰’, 为易受瓜列当寄生的品种, 购自陕西杨凌种子公司。

1.2 培养皿共培养试验

瓜列当种子表面消毒和预培养: 将瓜列当种子先后放于 1.0%(*w/v*)NaClO 溶液和 75% 的乙醇中分别超声处理 3.0 min。列当种子用无菌水冲洗 5 次后置于超净工作台中晾干。将灭菌后玻璃纤维滤纸片(直径 8.0 mm)摆放于放有双层湿润滤纸的培养皿中。随后, 将 30~60 粒晾干后的列当种子均匀撒于各玻璃纤维滤纸片上。培养皿封口后放置于 25℃ 黑暗环境下培养 4 d, 备用。

CF3 无细胞发酵滤液(以下简称发酵液)制备: CF3 发酵液按照 Chen 等^[13]液态摇床培养的方法进行。用不同浓度的霍格兰德(Hogland)营养液^[14]将 CF3 的发酵液原液稀释至体积比($V_{CF3}/V_{Hogland}$)分别为 1:2、1:4、1:6 和 1:8, 同时使 Hogland 营养液保持正常浓度。

番茄幼苗的准备: 将番茄种子播种于装有蛭石的穴盘中, 每穴 6 粒。将穴盘放置于光照和黑暗时间分别为 12 h 周期的 25℃ 培养间内培养并按需浇水。待出苗后, 各穴中番茄幼苗仅保留 1 株。当生长至约 10.0 cm 高时, 挑选健康生长, 大小一致的番茄幼苗, 小心拔出后用自来水将根系上蛭石冲洗干净, 再用无菌水冲洗 3 次, 备用。

将 8 g 灭菌后的蛭石放于侧边开有 1 个约 1 cm×1 cm 方孔的直径为 9.0 cm 塑料培养皿中。随后, 依次放入 1 片灭菌普通滤纸(直径约 8.5 cm)和 1 片灭菌玻璃纤维滤纸(直径约 8.5 cm)。加入 30.0 mL 上述各混合溶液后, 向滤纸上均匀撒入已表面消毒的瓜列当种子, 各处理 3 个培养皿重复。以仅加入 Hogland 营养液的处理作为对照。最后, 各培养皿滤纸上放入 1 株上述事先准备好的番茄幼苗。各培养皿用 3 层封口膜密封后垂直放置于纸盒中并用黑色塑料袋包裹后置于 25℃、光照和黑暗时间交替为 12 h 的光照培养箱中培养。每隔 1 d, 从方孔向各培养皿中添加 10.0 mL Hogland 营养液后再次将其封好。于培养 6 d、8 d、10 d、12 d 和 14 d 后, 用解剖显微镜观

察番茄根系周围列当种子萌发情况。各培养皿选择 7 个显微镜视野统计瓜列当种子的萌发数和总数, 并按公式(1)和(2)分别计算列当种子的萌发率和萌发抑制率。

$$R_G(\%) = (N_G/N_T) \times 100 \quad (1)$$

$$R_P(\%) = [(C_G - F_G)/C_G] \times 100 \quad (2)$$

式中: R_G 为列当种子萌发率, N_G 为萌发列当种子数, N_T 为列当种子总数, R_P 为列当种子萌发抑制率, C_G 为对照中列当种子萌发率, F_G 为 CF3 发酵液处理后列当种子萌发率。

1.3 CF3 对瓜列当发芽管生长影响试验

按 1.2 中方法制备 CF3 发酵液原液并将其分别稀释 10 倍和 100 倍后备用。

将玻璃纤维滤纸片(直径 8.0 mm)摆放于直径 9.0 cm 的培养皿中。随后, 分别向各玻璃纤维滤纸片上先后加入 20.0 μL CF3 发酵液、1 片预培养后的瓜列当种子片和 20.0 μL 0.1 mg·L⁻¹ 的 GR24(人工合成的列当种子萌发诱导物, 由澳大利亚新威尔士州悉尼大学化学学院的 Christopher McErlean 提供)。以 20.0 μL 0.1 mg·L⁻¹ 的 GR24 替代 CF3 发酵液的处理作为对照。各处理 3 个滤纸片。将各培养皿封口后置于 25℃ 黑暗环境下培养 10 d 后, 将瓜列当种子片放于显微镜下拍照。各处理随机选择 30 粒已经萌发的列当种子, 用 GetData Graph Digitizer 2.24 软件测量其发芽管长度, 并按公式(3)计算 CF3 对瓜列当发芽管长度的抑制率:

$$I_L(\%) = [(L_C - L_T)/L_C] \times 100 \quad (3)$$

式中: I_L 为 CF3 发酵液对瓜列当发芽管长度的抑制率, L_C 为对照中瓜列当发芽管长度, L_T 为 CF3 发酵液处理后瓜列当发芽管长度。

1.4 盆栽试验

试验方案: 对照, 拌土加入瓜列当种子; CF3 处理, 拌土加入瓜列当种子和 CF3 菌剂(按 Chen 等^[13]的方法制备, 其中灰黄青霉的活孢子含量为 10⁹ 个·g⁻¹ 干菌剂)。

盆栽试验于 2014 年 5—9 月在宁夏回族自治区西北农林科技大学水土保持研究所固原生态试验站进行。盆栽试验所用土壤为黑垆土。取田间耕层土壤与细沙按质量比 1:1 混合, 加入尿素(20.0 mg·kg⁻¹)、过磷酸钙(50.0 mg·kg⁻¹)、瓜列当种子(3.4 mg·kg⁻¹)和灰黄青霉菌剂(1.0 g·kg⁻¹)充分混匀后装入高 25.0 cm、直径为 20.0 cm 的塑料盆中, 每盆装土 8.0 kg。各处理 6 盆重复。

按 1.2 中方法于穴盘中培育番茄幼苗。待长至约 10.0 cm 高后, 将番茄幼苗拔出移栽至装有上述

混合土壤的塑料盆中, 每盆 1 株。所有处理移栽后均按需浇水和除草。

移栽番茄幼苗后 70 d, 从各处理中分别选取 3 盆采样, 另外 3 盆于移栽后 130 d 采样。于两次采样时期, 统计列当出土数和寄生总数, 称取列当总干重, 并根据公式(4)和(5)分别计算列当的出土率和单株列当干重; 测量番茄株高, 统计番茄果实个数, 并称量番茄茎叶干重和果实鲜重。此外, 在移栽后 130 d 采样时采集番茄根系并称取干重。

$$A_E(\%) = (N_E/N_T) \times 100 \quad (4)$$

$$W(g) = W_T/N_T \quad (5)$$

式中: A_E 为瓜列当出土率, N_E 为瓜列当出土数量, N_T 为瓜列当寄生总数, W 为瓜列当单株干重, W_T 为瓜列当总干重, N_T 为瓜列当寄生总数。

在两采样时期均采集番茄根区土壤, 采用稀释涂平皿法^[15]对其中细菌、放线菌和真菌进行分离并统计相应数量, 计算细菌与真菌及放线菌与真菌的数量比。同时, 统计 CF3 的数量, 计算 CF3 在真菌总数中的定殖率及除 CF3 外真菌的数量。各指标处理与对照相比的增加率按照公式(6)计算。

$$R_I(\%) = [(T-C)/C] \times 100 \quad (6)$$

式中: R_I 为处理与对照相比的增加率, T 为处理的数值, C 为对照的数值。

1.5 统计分析

数据分析采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 18.0

软件进行。试验数据均进行单因素方差分析。CF3 抑制瓜列当种子萌发和发芽管长度的数据采用 Tukey 法进行分析($P<0.05$)。其中, 对瓜列当种子萌发率进行多重比较时, 先进行反正弦转换, 再进行多重比较。盆栽试验数据均采用两独立样本的 t 检验方法进行分析($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 CF3 对番茄诱导瓜列当种子萌发的影响

将列当种子与番茄幼苗于培养皿内共培养 6 d 后, 不添加 CF3 发酵液的对照中, 番茄根系周围瓜列当种子的萌发率为 23.48%; 而添加不同比例 CF3 发酵液的处理中, 番茄根系周围瓜列当种子的萌发均被完全抑制。培养 8 d 后, CF3 发酵液对瓜列当种子萌发的抑制率为 47.51%~80.26%。培养 10 d 后, 在添加 CF3 发酵液与 Hogland 营养液体积比($V_{CF3}/V_{Hogland}$)为 1/2、1/4 和 1/6 的处理中, 瓜列当种子的萌发仍被抑制, 抑制率分别为 45.58%、24.89% 和 24.80%。继续培养至 12 d 和 14 d 后, 仅添加 $V_{CF3}/V_{Hogland}$ 为 1/2 溶液的处理在培养 14 d 后瓜列当种子萌发率减少了 19.23%。上述指标对照与处理间差异显著($P<0.05$)。CF3 发酵液能够抑制番茄根系诱导的瓜列当种子的萌发。随添加比例降低和培养时间延长, CF3 发酵液对瓜列当种子萌发的抑制作用减弱(表 1)。

表 1 灰黄青霉 CF3 发酵液对番茄诱导瓜列当种子萌发的抑制作用

Table 1 Inhibition effect of the cell-free culture filtrate of *Penicillium griseofulvum* CF3 on seed germination of *Orobanche aegyptiaca* induced by tomato

V_{CF3} 与 Hogland 营 养液体积比	培养时间 Cultivated time (d)									
	6		8		10		12		14	
	R_G (%)	R_P (%)	R_G (%)	R_P (%)	R_G (%)	R_P (%)	R_G (%)	R_P (%)	R_G (%)	R_P (%)
CK	23.48±1.46a	—	33.27±4.44a	—	56.70±6.35a	—	64.55±4.16a	—	77.14±3.46a	—
1/2	0.00±0.00b	100.00	6.57±0.54c	80.26	31.56±3.06c	45.58	55.84±8.57a	13.57	62.27±4.21b	19.23
1/4	0.00±0.00b	100.00	9.90±0.52bc	70.26	43.56±2.89b	24.89	56.23±5.72a	12.96	65.70±7.48ab	14.79
1/6	0.00±0.00b	100.00	10.62±5.08bc	68.10	43.62±3.79b	24.80	65.24±1.60a	-1.00	77.52±3.47a	-0.55
1/8	0.00±0.00b	100.00	17.48±3.61b	47.51	46.11±5.33ab	20.50	63.87±5.26a	1.13	72.31±5.86ab	6.21

表中数据为平均值±标准差($n=3$)。同列数据后不同小写字母表示处理间数值经反正弦转换再经 Tukey 检验后差异显著($P<0.05$)。 V_{CF3} : volume of cell-free culture filtrate of *Penicillium griseofulvum* CF3; $V_{Hogland}$: Hogland solution volume; R_G : germination rate; R_P : percent reduction. Values are means ± standard deviation ($n = 3$). Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (arcsine transformed) among treatments ($P < 0.05$) based on the Tukey's test.

2.2 CF3 对瓜列当发芽管生长及形态的影响

培养皿内种子萌发试验中, CF3 发酵液原液完全抑制了瓜列当发芽管的生长。经 CF3 发酵液 10 倍和 100 倍稀释液处理后的瓜列当发芽管长度分别为 0.36 mm 和 0.94 mm, 与对照(1.16 mm)相比分别缩短 68.84% 和 19.24%($P<0.05$)(图 1)。GR24

处理的对照中, 瓜列当发芽管表面光滑, 呈透明或半透明状。经 CF3 发酵液处理后的瓜列当尽管发芽管长度缩短, 但在形态上与对照相比无明显差异。CF3 发酵液对萌发后瓜列当发芽管生长的抑制作用随稀释倍数的增加而逐渐减弱(图 2)。

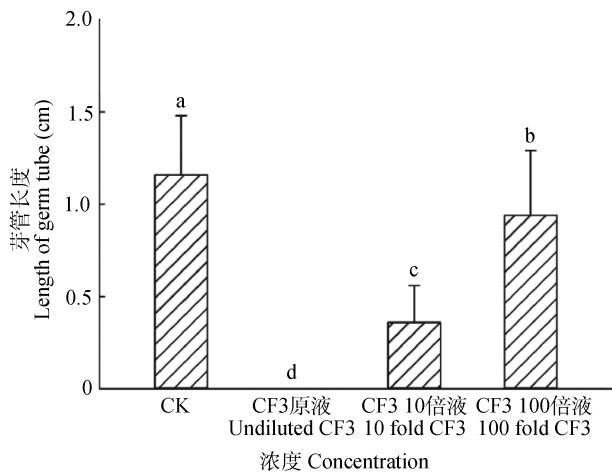


图 1 灰黄青霉 CF3 发酵液对瓜列当发芽管长度的抑制作用

Fig. 1 Inhibition effect of the cell-free culture filtrate of *Penicillium griseofulvum* CF3 on the germ tube elongation of *Orobanche aegyptiaca*

CK: $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GR24 处理。图中误差线为标准差($n=30$)。图中不同小写字母表示处理间数值经 Tukey 检验差异显著($P<0.05$)。CK: treated by $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GR24. Bars in the figure mean standard deviation ($n = 30$). Different lowercase letters in the figure indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$) based on the Tukey's test.

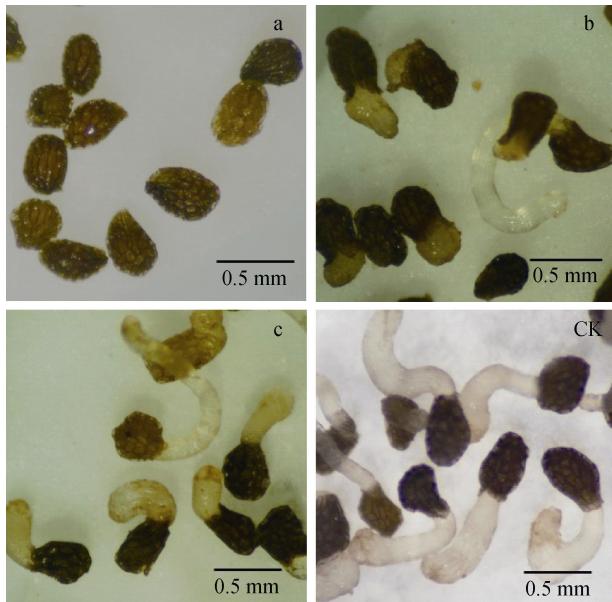


图 2 灰黄青霉 CF3 发酵液对瓜列当发芽管形态的影响

Fig. 2 Effects of the cell-free culture filtrate of *Penicillium griseofulvum* CF3 on the form of *Orobanche aegyptiaca* germ tubes
a、b、c 和 CK 分别为 CF3 发酵液原液、10 倍、100 倍稀释液和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GR24 处理 10 d 后的瓜列当发芽管形态。a, b, c and CK are the forms of *O. aegyptiaca* germ-tubes treated by the un-diluted, 10 fold, 100 fold diluted cell-free culture filtrates of *P. griseofulvum* CF3, and GR24 at $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for 10 days, respectively.

2.3 CF3 菌剂对番茄根寄生瓜列当的防除作用

2.3.1 对番茄根寄生瓜列当的抑制作用

移栽番茄后 130 d, 施加 CF3 菌剂处理的瓜列当

出土数量为每盆 1.67 个, 瓜列当出土率为 12.09%, 单株瓜列当干重为 0.70 g, 与对照相比分别降低了 76.19%、85.30% 和 28.48%。移栽 70 d 后, CF3 菌剂使单株瓜列当干重与对照相比也减少 83.28%。两次采样的平均值中, 施加 CF3 菌剂使瓜列当出土率和单株瓜列当干重与对照相比分别降低 90.19% 和 55.64%。上述指标处理与对照间差异均显著($P<0.05$)。此外, CF3 菌剂还使移栽 70 d 后瓜列当的出土数量和出土率与对照相比分别减少 50.00% 和 87.01%, 但对照与处理间差异均不显著。两次采样时期, CF3 菌剂对瓜列当总干重均无显著影响。然而, 施加灰黄青霉菌剂 130 d 后, 瓜列当的寄生总数与对照相比增加 57.69%($P<0.05$); 但在移栽后 70 d 和两次采样平均值中, CF3 对瓜列当的寄生总数均无显著影响。总体来看, 施加 CF3 活菌制剂对番茄生长后期瓜列当的出土及单株瓜列当的生长有较强抑制作用(表 2)。

2.3.2 对寄主番茄生长的影响

移栽 130 d 后, 施加灰黄青霉 CF3 菌剂的处理中, 番茄果实鲜重为每株 346.81 g, 与对照(228.82 g)相比显著增加 51.57%($P<0.05$)。施加 CF3 菌剂也使同一采样时期番茄根系干重与对照相比增加了 12.46%, 但对照与处理间差异不显著。移栽 70 d 后, CF3 菌剂使番茄果实个数与对照相比显著增加 100.00%($P<0.05$)。平均来看, CF3 菌剂使番茄果实个数与不施加菌剂的对照相比显著增加 66.67%($P<0.05$); 使番茄果实鲜重增加 24.91%, 但对照与处理间差异不显著。CF3 菌剂在两采样时期对番茄株高和茎叶干重均无显著影响。总体来看, CF3 菌剂对番茄植株生长影响不大, 但对番茄果实个数和鲜重有增加作用(表 3)。

2.3.3 对寄主根区土壤微生物区系的影响

移栽番茄 70 d 后, 灰黄青霉 CF3 菌剂使番茄根区土壤中细菌和放线菌的数量与不施加菌剂对照相比分别增加 142.35% 和 126.26%。移栽番茄 130 d 后, CF3 菌剂使番茄根区土壤中除 CF3 外真菌数量比对照降低 75.60%, 细菌与真菌的数量之比与对照相比增加 117.57%。平均来看, CF3 使番茄根区土壤中除 CF3 外真菌数量降低 42.81%, 放线菌总数增加 84.15%。上述指标对照与处理间差异显著($P<0.05$)。CF3 对番茄根区土壤中放线菌与真菌的数量之比无显著影响。移栽番茄 70 d、130 d 后及两次采样平均值中, 灰黄青霉 CF3 在番茄根区土壤真菌中的定殖率分别为 54.23%、46.34% 及 50.29%(表 4)。

表2 盆栽试验中灰黄青霉CF3菌剂对瓜列当寄生数量和生物量的影响

Table 2 Effects of the *Penicillium griseofulvum* CF3 inoculum on parasitism and biomass of *Orobanche aegyptiaca* in the pot experiment

采样时期 Sampling time	处理 Treatment	出土数量 Epigeal number		寄生总数 Total parasitism number		出土率 Epigeal rate		总干重 Total dry weight		单株干重 Individual dry weight	
		测值 Measured value	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value (%)	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value (g·pot⁻¹)	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value (g·plant⁻¹)	增率 ΔCK (%)
		(plant·pot⁻¹)		(plant·pot⁻¹)		(%)		(g·pot⁻¹)		(g·plant⁻¹)	
移栽后 70 d 70 days after transplantation	CK	0.67±0.58	—	3.00±1.73	—	23.33±25.17	—	2.48±0.30	—	0.96±0.36	—
CF3	0.33±0.58	-50.00	5.00±5.57	66.67	3.03±5.25	-87.01	1.06±1.00	-57.12	0.16±0.15	-83.28*	
移栽后 130 d 130 days after transplantation	CK	7.00±1.00	—	8.67±1.53	—	82.22±16.78	—	8.39±1.01	—	0.98±0.12	—
CF3	1.67±0.58	-76.19*	13.67±0.58	57.69*	12.09±3.81	-85.30*	9.56±0.49	13.95	0.70±0.05	-28.48*	
平均值	CK	3.83±3.54	—	5.83±3.43	—	52.78±37.50	—	5.44±3.30	—	0.97±0.24	—
Mean	CF3	1.00±0.89	-73.91	9.33±5.92	60.00	5.18±6.08	-90.19*	5.31±4.71	-2.27	0.43±0.31	-55.64*

CF3: 灰黄青霉。表中数据为平均值±标准差($n=3$ 或6)。*表示处理与对照经t检验差异显著($P<0.05$)。CF3: *P. griseofulvum*. Values are means ± standard deviation ($n=3$ or 6). * in the table indicates significant difference ($P < 0.05$) between CF3 and CK treatments based on the t test.

表3 盆栽试验中灰黄青霉CF3菌剂对番茄生长的影响

Table 3 Promotion effects of the *Penicillium griseofulvum* CF3 inoculum on the growth of tomato plants in the pot experiment

采样时期 Sampling time	处理 Treatment	株高 Plant height		茎叶干重 Dry weight of stems and leaves		果实个数 Number of fruits		果实鲜重 Total fresh weight of fruits		根系干重 Dry weight of roots	
		测值 Measured value	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value (number·plant⁻¹)	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value	增率 ΔCK (%)	测值 Measured value	增率 ΔCK (%)
		(cm)		(g·plant⁻¹)		(num·plant⁻¹)		(g·plant⁻¹)		(g·plant⁻¹)	
移栽后 70 d 70 days after transplantation	CK	43.00±1.00	—	11.68±2.75	—	3.00±0.00	—	135.17±6.86	—	—	—
CF3	45.00±6.24	4.65	8.69±1.03	-25.60	6.00±1.73	100.00*	107.83±23.03	-20.23	—	—	
移栽后 130 d 130 days after transplantation	CK	48.97±7.60	—	16.60±0.52	—	6.00±2.00	—	228.82±7.13	—	1.95±0.31	—
CF3	62.50±4.50	27.64	16.64±0.53	0.24	9.00±1.00	50.00	346.81±40.10	51.57*	2.20±0.32	12.46	
平均值	CK	45.98±5.85	—	14.14±3.22	—	4.50±2.07	—	181.99±51.67	—	—	—
Mean	CF3	53.75±10.75	16.89	12.67±4.42	-10.43	7.50±2.07	66.67*	227.32±134.12	24.91	—	—

CF3: 灰黄青霉。表中数据为平均值±标准差($n=3$ 或6)。*表示处理数值与相对对照相比经t检验差异显著($P<0.05$)。CF3: *P. griseofulvum*. Values are means ± standard deviation ($n=3$ or 6). * in the table indicates significant difference ($P < 0.05$) between CF3 and CK treatments based on the t test.

表4 盆栽试验中灰黄青霉CF3菌剂对番茄根区土壤微生物区系的影响

Table 4 Effects of the *Penicillium griseofulvum* CF3 inoculum on microflora in the rhizosphere soils of tomato plants in the pot experiment

采样时期 Sampling time	处理 Treatment	细菌 Bacteria		真菌 Fungi				放线菌 Actinomycetes				细菌数量/真菌数量 Bacteria/fungi		放线菌数量/真菌数量 Actinomycetes/fungi				
		CF3 <i>P. griseofulvum</i>		除 CF3 外真菌 Fungi besides CF3		数量 Amount		定殖率 Colonization rate (%)		数量 Amount		增率 ΔCK (%)		数量 Amount		增率 ΔCK (%)		
		数量 Amount (10 ⁵ CFU·g⁻¹)	增率 ΔCK (%)	数量 Amount (10 ³ CFU·g⁻¹)	定殖率 Colonization rate (%)	数量 Amount (10 ³ CFU·g⁻¹)	增率 ΔCK (%)	数量 Amount (10 ⁵ CFU·g⁻¹)	增率 ΔCK (%)	数量 Amount (10 ⁵ CFU·g⁻¹)	增率 ΔCK (%)	比值 Ratio	增率 ΔCK (%)	数量 Amount (10 ⁵ CFU·g⁻¹)	增率 ΔCK (%)	比值 Ratio	增率 ΔCK (%)	
移栽后 70 d 70 days after transplantation	CK	6.19±2.14	—	—	—	27.23±2.84	—	11.57±3.64	—	23.31±9.59	—	42.12±9.88	—	—	—	—	—	
CF3	15.00±3.75	142.35*	32.49±1.08	54.23	27.49±2.86	0.98	26.18±2.24	126.26*	25.08±6.56	7.58	43.65±3.62	3.64						
移栽后 130 d 130 days after transplantation	CK	5.02±0.52	—	—	—	36.36±5.19	—	8.37±0.50	—	13.94±1.94	—	23.45±4.52	—					
CF3	4.71±0.42	-6.12	7.76±2.54	46.34	8.87±2.54	-75.60*	10.54±1.92	25.91	30.33±10.02	117.57*	69.49±30.77	196.37						
平均值	CK	5.60±1.53	—	—	—	31.79±6.25	—	99.70±29.14	—	18.63±8.04	—	32.78±12.32	—					
Mean	CF3	9.86±6.12	75.84	20.13±13.66	50.29	18.18±10.48	-42.81*	183.59±87.69	84.15*	27.71±8.10	48.74	56.57±24.17	72.56					

CF3: 灰黄青霉。表中数据为平均值±标准差($n=3$ 或6)。*表示处理数值与相对对照相比经t检验差异显著($P<0.05$)。CF3: *P. griseofulvum*. Values are means ± standard deviation ($n=3$ or 6). * indicates significant difference ($P < 0.05$) between CF3 and CK treatments based on the t test.

3 讨论

本研究中, 灰黄青霉 CF3 的无细胞发酵滤液在

培养皿试验中抑制了瓜列当的种子萌发及萌发后瓜

列当发芽管的生长。盆栽试验中, CF3 活菌制剂降低

了番茄生长后期瓜列当的出土数量和出土率, 减少了单株瓜列当的生物量, 最终减轻了瓜列当对寄主番茄的危害, 使番茄增产。

本研究中, CF3 发酵液对瓜列当种子萌发和发芽管生长均有抑制作用。已有研究表明, 假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)和芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)能够抑制列当发芽管的伸长^[16]。来源于真菌的球香豆素和细胞松弛素也能够抑制列当发芽管的生长^[17]。本团队前期研究表明, 灰黄青霉 CF3 通过产生展青霉素抑制了 GR24 诱导的瓜列当种子萌发^[18]。本研究进一步表明, CF3 发酵液还能够抑制番茄幼苗诱导的瓜列当种子萌发, 并对 GR24 诱导萌发后瓜列当发芽管的生长也有强烈抑制作用。一些化合物作用于列当后会破坏列当发芽管的正常生长。*epi*-sphaeropsidone 处理后的列当发芽管顶端有异状突起, 而由 *epi*-sphaeropsidone 或 sphaeropsidin A 处理后的列当发芽管出现坏死现象^[17]。然而, 在本研究中, CF3 发酵液对瓜列当发芽管形态无影响。

盆栽试验中, 施加 CF3 活菌制剂抑制了瓜列当的出土和单株瓜列当的生长, 并使番茄增产。列当出土数量和生物量是评价生防菌防治列当效果的重要指标。盆栽试验中施加列当病原菌尖孢镰刀菌和腐皮镰刀菌(*F. solani*)均降低了分枝列当的出土数量和生物量^[19-20], 荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)也能够降低 *O. efoetida* 和分枝列当的出土数量及干重^[21]。本研究中, 将 CF3 菌剂施加于盆栽土壤后, 阻碍了寄生后瓜列当的出土并抑制了寄生后单株瓜列当的生长。灰黄青霉在土壤中通过作用于寄生后瓜列当, 抑制了寄生于番茄根系上单株瓜列当的生长, 使其出土慢, 个体小, 从而减少了瓜列当对寄主番茄养分的掠夺, 减轻了瓜列当对寄主番茄造成的危害, 最终使番茄增产。

此外, 值得注意的是, 盆栽施加 CF3 菌剂 130 d 后, 在降低瓜列当出土率和单株生物量的同时也增加了瓜列当的寄生总数, 但列当总干重并未增加, 表明 CF3 菌剂可抑制单株瓜列当生长。在土壤中, 列当在寄主根系分泌特殊化学物质的诱导下萌发并寄生于周围的根系上^[22]。多种生防菌施加于土壤后对作物根系有促生作用^[23-25]。本试验中, 施加 CF3 菌剂使番茄根系生物量与不施加菌剂的对照相比在数值上增加了 12.46%, 表明 CF3 具有促进番茄根系生长的潜能。CF3 菌剂一方面可能通过促进番茄根系发育来增加列当寄生的位点; 另一方面也可能通过促进番茄根系生长, 刺激番茄根系产生更多根系分泌物, 进而诱导更多的瓜列当种子萌发, 最终增

加了瓜列当成功寄生的概率。

灰黄青霉 CF3 通过调整寄主番茄根区土壤的微生物结构来减轻瓜列当对番茄的危害。列当寄生会使对植物生长有益的细菌和放线菌的数量减少^[26]。来源于土壤中的有益微生物具有修复土壤微生物结构的功能^[27-29]。盆栽施加淡紫褐链霉菌(*Streptomyces enissocaesilis*)活孢子制剂后, 在增加寄主向日葵根区土壤中细菌数量及比例的同时也降低了向日葵列当的出土数量^[13]。本研究中, 施加灰黄青霉 CF3 活孢子菌剂增加了细菌与真菌的数量之比, 降低了除 CF3 外真菌的数量; 同时降低了瓜列当的出土数量和出土率。通过将活菌制剂施加于土壤中来调整番茄根区土壤中微生物结构可能是灰黄青霉 CF3 减轻瓜列当对番茄危害的主要机制之一。施加 CF3 菌剂后, 番茄上瓜列当出土数量和出土率与寄主番茄根区土壤中微生物变化之间的关系仍待进一步详细研究。

利用灰黄青霉 CF3 防除列当具有对寄主及下茬作物无害, 能够在土壤中良好定殖等优点。目前, 关于列当生防真菌的研究多集中在列当病原菌上, 大多是通过将列当病原真菌施用于土壤或已经出土的列当植株使其发病来减轻列当造成的危害^[5-6]。然而, 列当病原真菌也可能是农作物的病原菌, 利用列当病原菌防除列当存在使寄主或下茬作物患病的风险。本文所用灰黄青霉 CF3 来源于健康农田土壤, 对多种作物病原菌有拮抗作用, 对农作物无致病性。因此, 将 CF3 施加到有列当的土壤中, 既能够防除列当、提高寄主作物的抗病性, 又对寄主及下茬作物无害。CF3 还能够有效定殖于寄主根区土壤中而不污染土壤环境。因此, 灰黄青霉 CF3 适宜作为番茄上寄生瓜列当的生物防除菌株。田间条件下灰黄青霉对番茄上寄生瓜列当的防除效果仍需进一步试验研究。

参考文献 References

- [1] PARKER C. The parasitic weeds of the Orobanchaceae[M]// JOEL D M, GRESSEL J, MUSSELMAN L J. Parasitic Orobanchaceae. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013: 313-344
- [2] ZHANG X K, YAO Z Q, ZHAO S F, et al. *Rhizopus* stem rot of *Orobanche aegyptiaca* caused by *Rhizopus oryzae* in China[J]. Journal of Phytopathology, 2013, 161(10): 745-748
- [3] 张学坤, 姚兆群, 赵思峰, 等. 分枝(瓜)列当在新疆的分布、危害及其风险评估[J]. 植物检疫, 2012, 26(6): 31-33
ZHANG X K, YAO Z Q, ZHAO S F, et al. Distribution, harmfulness and its assessment of *Orobanche aegyptiaca* in Xinjiang Province[J]. Plant Quarantine, 2012, 26(6): 31-33
- [4] 陈杰, 马永清, 薛泉宏. 利用微生物防除根寄生杂草列当[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(1): 49-56
CHEN J, MA Y Q, XUE Q H. Use of microorganisms in con-

- trolling parasitic root weed *Orobanche* spp.[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(1): 49–56
- [5] THOMAS H, SAUERBORN J, MULLER-STÖVER D, et al. The potential of *Fusarium oxysporum* f. sp. *orthoceras* as a biological control agent for *Orobanche cumana* in sunflower[J]. Biological Control, 1998, 13(1): 41–48
- [6] NEMAT ALLA M M, SHABANA Y M, SERAG M M, et al. Granular formulation of *Fusarium oxysporum* for biological control of faba bean and tomato *Orobanche*[J]. Pest Management Science, 2008, 64(12): 1237–1249
- [7] DOR E, HERSHENHORN J. Evaluation of the pathogenicity of microorganisms isolated from Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*) in Israel[J]. Weed Biology and Management, 2009, 9(3): 200–208
- [8] DOR E, HERSHENHORN J, ANDOLFI A, et al. *Fusarium verticillioides* as a new pathogen of the parasitic weed *Orobanche* spp.[J]. Phytoparasitica, 2009, 37(4): 361–370
- [9] LOUARN J, CARBONNE F, DELAVault P, et al. Reduced germination of *Orobanche cumana* seeds in the presence of arbuscular mycorrhizal fungi or their exudates[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49273
- [10] FERNÁNDEZ-APARICIO M, GARCÍA-GARRIDO J M, OCAMPO J A, et al. Colonisation of field pea roots by arbuscular mycorrhizal fungi reduces *Orobanche* and *Phelipanche* species seed germination[J]. Weed Research, 2010, 50(3): 262–268
- [11] EL-KASSAS R, EL-DIN Z K, BEALE M H, et al. Bioassay-led isolation of *Myrothecium verrucaria* and verrucarin A as germination inhibitors of *Orobanche crenata*[J]. Weed Research, 2005, 45(3): 212–219
- [12] 申光辉, 薛泉宏, 张晶, 等. 草莓根腐病拮抗真菌筛选鉴定及其防病促生作用[J]. 中国农业科学, 2012, 45(22): 4612–4626
SHEN G H, XUE Q H, ZHANG J, et al. Screening, identification and biocontrol potential of antagonistic fungi against strawberry root rot and plant growth promotion[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(22): 4612–4626
- [13] CHEN J, XUE Q H, MCERLEAN C S P, et al. Biocontrol potential of the antagonistic microorganism *Streptomyces enissocaesilis* against *Orobanche cumana*[J]. BioControl, 2016, 61(6): 781–791
- [14] HOAGLAND D R, ARNON D I. The Water-culture Method for Growing Plants Without Soil[M]. Berkeley, USA: University of California, 1950: 39
- [15] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 80–84, 383–384
CHENG L J, XUE Q H. Laboratory Manual of Microbiology[M]. Beijing: Science Press, 2012: 80–84, 383–384
- [16] BARGHOUTI S, SALMAN M. Bacterial inhibition of *Orobanche aegyptiaca* and *Orobanche cernua* radical elongation[J]. Biocontrol Science and Technology, 2010, 20(4): 423–435
- [17] CIMMINO A, FERNÁNDEZ-APARICIO M, ANDOLFI A, et al. Effect of fungal and plant metabolites on broomrapes (*Orobanche* and *Phelipanche* spp.) seed germination and radicle growth[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(43): 10485–10492
- [18] CHEN J, WEI J, GAO J M, et al. Allelopathic inhibitory effects of *Penicillium griseofulvum* produced patulin on the seed germination of *Orobanche cumana* Wallr. and *Phelipanche aegyptiaca* Pers.[J]. Allelopathy Journal, 2017, 41(1): 65–80
- [19] MÜLLER-STÖVER D, KOHLSCHMID E, SAUERBORN J. A novel strain of *Fusarium oxysporum* from Germany and its potential for biocontrol of *Orobanche ramosa*[J]. Weed Research, 2009, 49(2): 175–182
- [20] BOARI A, VURRO M. Evaluation of *Fusarium* spp. and other fungi as biological control agents of broomrape (*Orobanche ramosa*)[J]. Biological Control, 2004, 30(2): 212–219
- [21] ZERMANE N, SOUSSI T, KROSCHEL J, et al. Biocontrol of broomrape (*Orobanche crenata* Forsk. and *Orobanche foetida* Poir.) by *Pseudomonas fluorescens* isolate Bf 7–9 from the faba bean rhizosphere[J]. Biocontrol Science and Technology, 2007, 17(5): 483–497
- [22] MUSSELMAN L J. The biology of *Striga*, *Orobanche*, and other root-parasitic weeds[J]. Annual Review of Phytopathology, 1980, 18(1): 463–489
- [23] EL-TARABILY K A, NASSA A H, HARDY G E ST J, et al. Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes[J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 106(1): 13–26
- [24] 段佳丽, 舒志明, 孙群, 等. 放线菌剂对丹参生长及有效成分的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(2): 195–200
DUAN J L, SHU Z M, SUN Q, et al. Effect of antimicrobial actinomycetes on growth and medicine quality of *Salvia miltiorrhiza* Bge.[J] Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2012, 40(2): 195–200
- [25] 赵娟, 杜军志, 薛泉宏, 等. 3株放线菌对甜瓜幼苗的促生与抗性诱导作用[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(2): 109–116
ZHAO J, DU J Z, XUE Q H, et al. The growth-promoting effect and resistance induction of 3 antagonistic actinomycetes on *Cucumis melo* L.[J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed., 2010, 38(2): 109–116
- [26] HRISTEVA T, DEKALSKA T, DENEV L. Structural and functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of plants infected with broomrapes (*Orobancheaceae*)[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2013, 27(5): 4082–4086
- [27] 孙敬祖, 薛泉宏, 唐明, 等. 放线菌制剂对连作草莓根区微生物区系的影响及其防病促生作用[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(12): 153–158
SUN J Z, XUE Q H, TANG M, et al. Study on the effect of actinomycetes on microflora of replanted strawberry's root domain and the bio-control effectiveness[J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2009, 37(12): 153–158
- [28] BERNARD E, LARKIN R P, TAVANTZIS S, et al. Compost, rapeseed rotation, and biocontrol agents significantly impact soil microbial communities in organic and conventional potato production systems[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 52: 29–41
- [29] 张鸿雁, 薛泉宏, 申光辉, 等. 放线菌制剂对人参生长及根域土壤微生物区系的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(8): 2287–2293
ZHANG H Y, XUE Q H, SHEN G H, et al. Effects of actinomycetes agent on ginseng growth and rhizosphere soil microflora[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(8): 2287–2293