

6种植物源化合物对南方根结线虫的毒性和温室防效研究

刘丹丹, 段玉玺*, 陈立杰, 朱晓峰, 王媛媛
(沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 采用室内离体测定和温室防效测定方法, 研究6种植物源化合物对南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)的防治作用。室内生物活性测定结果显示, 草酸对南方根结线虫二龄幼虫的抑制作用最强, $EC_{50} = 102.1834 \text{ mg/L}$, 6种化合物按抑制作用由大到小顺序为: 草酸>巴豆酸>酒石酸>扁桃酸>苹果酸>柠檬酸。温室防效试验结果表明, 6种化合物对南方根结线虫二龄幼虫的防效, 仍以草酸最高(76.8%), 柠檬酸最低(10.4%), 顺序与室内生物活性测定结果一致。

关键词: 植物源化合物; 草酸; 南方根结线虫; 生物活性; 温室防效

中图分类号: S432.4⁺5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)05-0111-03

Nematicidal Activity of Six Phytochemicals against *Meloidogyne incognita* and Control Effects in Greenhouse

LIU Dan-dan, DUAN Yu-xi*, CHEN Li-jie, ZHU Xiao-feng, WANG Yuan-yuan
(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: The nematicidal activity and control effects of 6 phytochemicals against *Meloidogyne incognita* J2 were separately tested in glass culture dishes and greenhouse. The result showed that oxalic acid had the strongest inhibition activity, of which EC_{50} was 102.1834 mg/L . According to the inhibition activity, the order from big to small was oxalic acid>crotonic acid>tartaric acid>mandelic acid>malic acid>citric acid. The result in greenhouse indicated that the control effect of oxalic acid(76.8%) was the most significant and citric acid the lowest(10.4%). And the control effect order of 6 chemicals against *M. incognita* in greenhouse was consistent with that of their nematicidal activity.

Key words: Phytochemicals; Oxalic acid; *Meloidogyne incognita*; Bioactivity; Control effects in greenhouse

植物寄生线虫是一类重要的病原物, 其对寄主植物的危害有多种方式, 例如直接取食寄主植物组织, 作为其他病原物的传播媒介引起寄主植物继发性病害等。同时, 线虫的食道腺分泌物会导致寄主植物发生一系列病理变化, 严重影响寄主植物的正常生长^[1]。近年来, 随着保护地蔬菜及其他经济作物种植面积的不断扩大, 植物寄生线虫的危害日益

加重, 严重制约我国农业经济的发展^[2-3]。

目前, 化学防治在线虫防治中仍占主导地位, 但化学杀线剂对线虫的非特异性、对非靶标生物的高毒性以及污染环境等问题, 使其应用受到很大限制。

20世纪80年代, 人们开始从植物中提取天然杀线虫活性物质, 主要包括多联噻吩类、多炔类、生氰糖苷类、生物碱类、脂肪酸及其衍生物、萜、倍半萜及二

收稿日期: 2011-01-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(30673199)

作者简介: 刘丹丹(1981-), 女, 辽宁盖州人, 在读博士研究生, 研究方向: 线虫生物防治。E-mail: liudandan.553@163.com

*通讯作者: 段玉玺(1964-), 男, 辽宁海城人, 教授, 博士生导师, 主要从事线虫病害防治和抗线虫资源研究。

E-mail: duanyx6407@163.com

萜类化合物、苦木素类、甾醇类及三萜系化合物和酚类化合物^[4]。目前,已报道的具有杀线虫活性的植物源化合物有 100 余种。植物源杀线虫物质具有在环境中易降解、对非靶标生物安全等优点,有较好的研究开发前景^[5-9]。鉴此,测定了草酸等 6 种植物源化合物对南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)二龄幼

虫的致死率,在此基础上进行了温室防效试验。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试药剂 选择 6 种植物源化合物作为供试药剂,具体见表 1。

表 1 供试植物源化合物种类及来源植物

化合物种类	含量/ %	生产厂家	主要来源植物
草酸	99.5	国药集团化学试剂有限公司	秋海棠、芭蕉
柠檬酸	99.5	天津市科密欧化学试剂有限公司	柑橘
苹果酸	99.0	国药集团化学试剂有限公司	山楂、苹果、葡萄
酒石酸	99.5	国药集团化学试剂有限公司	葡萄、罗望子
扁桃酸	99.0	国药集团化学试剂有限公司	扁桃
巴豆酸	98.0	北京金龙化学试剂有限公司	巴豆

1.1.2 供试线虫 供试线虫为南方根结线虫(*M. incognita*),其繁殖方法^[7-8]为:在直径 6 cm 的塑料盆中放入灭菌砂壤混合土,栽入 2~4 片真叶期的番茄苗(L402),用南方根结线虫单卵囊接种,于日光温室中培养。5 周后挖出番茄苗,用清水洗净根部泥沙,之后用镊子摘取成熟的黄褐色卵囊,放入 0.5% NaOCl 中表面消毒 3 min,无菌水冲洗 3 次。消毒后的卵囊放于盛有无菌水的培养皿中,收集 24 h 内孵化的二龄幼虫用于试验。

1.2 方法

1.2.1 生物活性测定 体积为 1.5 mL 的玻璃小皿,经过 121℃湿热灭菌 30 min 后,每皿中分别放入 30 条靶标线虫和 1 mL 不同质量浓度的化合物溶液,每种化合物均设置 5 个质量浓度,具体设计见表 2。将玻璃小皿在 25℃培养箱中放置 24 h,观察线虫死亡率,计算供试药剂的 EC₅₀。观察时,采用 NaOH 刺激法判断线虫是否死亡,即在怀疑线虫死亡的小皿中加入一滴 1 mol/L 的 NaOH 溶液,3 min 内如果线虫身体保持不动,则判定为死亡线虫^[9]。试验设 5 次重复,以无菌水为对照。

表 2 供试化合物在生物测定中使用的质量浓度 mg/L

化合物种类	质量浓度
草酸	120、110、100、90、80
柠檬酸	10 000、8 000、6 000、4 000、2 000
苹果酸	6 000、5 000、4 000、3 000、2 000
酒石酸	1 200、1 000、800、600、400
扁桃酸	3 000、2 500、2 000、1 500、1 000
巴豆酸	250、200、150、100、50

1.2.2 温室防效测定 选择供试药剂的 EC₅₀进行温

室防效测定,试验在沈阳农业大学日光温室内进行。黏土、沙子约 2 : 1 混合,干热灭菌后,放入 15 cm×15 cm 的塑料钵内,每钵 1 kg,之后移入三叶期番茄幼苗。在幼苗根部接种 2 000 条南方根结线虫二龄幼虫,同时施药 10 mL(由番茄幼苗的耐药能力确定),25℃培养 5 周后,调查番茄根结指数,参照番茄抗根结线虫评价标准^[10]进行,并计算防治效果。试验采用随机区组设计,以无菌水为对照,每个处理 5 株苗,5 次重复。

根结指数= Σ (各级病株数×各级代表值)×100/(调查总株数×最高严重度代表值),

防治效果=(对照根结指数-处理根结指数)/对照根结指数×100%。

1.3 数据分析

用 Microsoft Office Excel 2003 和 DPS Duncan's 新复极差法进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 6 种植物源化合物对南方根结线虫二龄幼虫的生物活性

由表 3 可知,6 种供试化合物对南方根结线虫二龄幼虫均有不同程度的抑制作用,其中草酸抑制作用最强,EC₅₀=102.183 4 mg/L;其次为巴豆酸,EC₅₀=105.245 1 mg/L;柠檬酸的抑制作用最弱,EC₅₀=3 589.483 4 mg/L。抑制作用由大到小顺序为:草酸>巴豆酸>酒石酸>扁桃酸>苹果酸>柠檬酸。

2.2 6 种植物源化合物对南方根结线虫的温室防效

从图 1 可以看出,草酸对南方根结线虫的防治效果最好,达到 76.8%,柠檬酸最差,仅为 10.4%。各化合物间防治效果差异较大,顺序与生物活性测定结果一致。

表 3 6 种植物源化合物对南方根结线虫二龄幼虫的生物活性

化合物种类	毒力回归方程	EC ₅₀ / (mg/ L)	95%置信区间	相关系数
草酸	$y=0.4901+2.2444x$	102.1834	29.9855~1381.7548	0.9858
柠檬酸	$y=0.0192+1.4011x$	3589.4834	487.9475~2619.0888	0.9882
苹果酸	$y=1.1543+1.0842x$	3524.8684	226.6824~6531.0519	0.9711
酒石酸	$y=0.2251+1.5817x$	1044.4899	36.8571~8076.2496	0.9082
扁桃酸	$y=0.1209+1.5536x$	1382.2550	297.0888~9766.9010	0.9915
巴豆酸	$y=0.1933+2.3769x$	105.2451	22.6812~8200.1065	0.9708

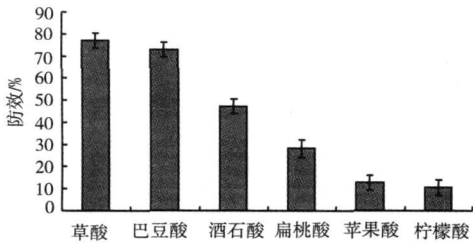


图 1 6 种植物源化合物对南方根结线虫的温室防效

3 结论与讨论

从研究结果可以看出, 6 种植物源化合物对南方根结线虫二龄幼虫的致死率存在很大差异, 其中草酸的生物活性最高, 苹果酸、柠檬酸等的生物活性较低。考虑所选化合物均为酸类及番茄幼苗对其耐受性程度, 进行温室防效测定时药剂施用量较低, 但最高防治效果仍达到 76.8%。本试验仅利用室内离体测定和温室防效测定的方法, 分析植物源化合物对植物寄生线虫的防效, 没有进行田间验证试验, 在实际生产中还需要开展深入研究。

试验选择的 6 种植物源化合物均来源于自然界, 有很好的环境相容性, 其中草酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸均被报道对植物寄生线虫有防治作用^[11-13]。如果能够明确这些化合物对重要植物寄生线虫的生物活性, 在此基础上对其进行结构优化与系统的应用技术研究, 将很有可能发现新型高效的杀线虫剂。

参考文献:

[1] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
[2] 刘鸣韬. 北方蔬菜根结线虫病加重的原因及控制对策[J].

河南农业科学, 2001(1): 22-23.
[3] 贾东坡, 冯林剑. 保护地蔬菜根结线虫病的综合防治技术[J]. 河南农业科学, 2010(12): 77-79.
[4] 丁琦, 徐守健, 闰磊, 等. 具杀线虫作用的植物源化合物研究[J]. 世界农药, 2006 28(2): 33-40.
[5] Chitwood D J. Phytochemical based strategies for nematode control[J]. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40: 221-249.
[6] Claudia B D, Angelica N M, Noma V A, et al. Nematicidal activity of the essential oils of several argentina plants against the root-knot nematode[J]. Journal of Essential Oil Research, 2004, 16(6): 626-628.
[7] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1995.
[8] 朱晓峰, 段玉玺, 陈立杰, 等. 黑曲霉 Snf009 发酵液对根结线虫的毒性测定及温室防效研究[J]. 河南农业科学, 2009(4): 84-85.
[9] Denilson F O, Hudson W P, Alessandro S N, et al. The activity of amino acids produced by *Paenibacillus macerans* and from commercial sources against the root-knot nematode *Meloidogyne exigua*[J]. European Journal of Plant Pathology, 2009, 124: 57-63.
[10] 王新荣, 郑静君, 汪国平, 等. 华南地区主要番茄品种对南方根结线虫的抗性评价[J]. 植物保护, 2009, 35(1): 124-126.
[11] Nieminen J K. Labile carbon alleviates wood ash effects on soil fauna[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(11): 2908-2910.
[12] Jianhua S, Haikuan W, Fuping L, et al. The efficacy of nematicidal strain *syncephalastrum racemosum* [J]. Annals of Microbiology, 2008, 58(3): 369-373.
[13] William S. The effects of acids on a soil nematode[J]. Parasitology, 1945, 36(3-4): 158-164.